



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
Facultad de Química



Tesis

para obtener el Grado de

Doctora en Ciencias Químicas

*Síntesis de nuevas oxazolin-2-onas con posible
actividad biológica antimicótica.*

M. en C. Q. Alejandra Ramírez Villalva

Dirigido por:

Dra. Ma. Paulina Aydeé Gracia Fuentes Benítez

Dr. Carlos González Romero

Dr. Joaquín Tamariz Mascarúa

JUNIO 2018
TOLUCA. ESTADO DE MÉXICO



En la vida no existe nada que temer, sólo cosas que comprender. . .

Marie Curie



*Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad
para penetrar en el bello y hermoso mundo del saber.*

Albert Einstein



Dedicatorias



A **Dios**, por permitirme llegar a esta etapa en mi vida, al lado de mi familia y amigos. Por darme la fuerza necesaria para seguir adelante y la entereza para superar las adversidades.

A **mis padres**, por creer en mí y apoyarme en cada decisión tomada. Por reconfortarme en los momentos de angustia y de preocupación. A **mi mamá** por ser mi inspiración, mi ejemplo a seguir, mi guía, mi apoyo incondicional, mi ángel guardián, sin ti yo no sería ni la sombra de lo que soy ahora. Eres extraordinaria, maravillosa, la mejor del mundo!!!

A **mis hermanos** Fran y Mariana, que han sabido llenarme de alegría en cada momento de tensión, que me han ayudado cuando mis ojos ya no pueden leer ni mis manos escribir. Que con cada locura logran sacar lo mejor de mí.

A **mis ahijados** Jorge Gabriel y Luis Darío, que desde el primer momento se robaron mi corazón. Han cambiado mi vida y me hacen sentir dichosa. Son un regalo hermoso que Dios puso en mi camino y sus padres me han confiado.

A **mis abuelos** Mariana y Gildardo, que me han alentado siempre, que confían en mí, que se preocupan por mí y me han dado tanto amor y buenos consejos que me hacen ser una mejor persona cada día.

Agradecimientos



A la Dra. Aydeé Fuentes Benítes por ser más que mi tutora académica, se ha convertido en parte de mi vida y tiene todo mi cariño y admiración. Gracias por la comprensión y motivación que me ha brindado a lo largo de mis estudios.

Al Dr. Carlos González Romero por su ayuda, anécdotas y los consejos invaluable que me han permitido crecer a nivel personal y profesional.

A los Maestros Macario Morales Rodríguez y Sergio Humberto Pavón Romero por el apoyo y confianza que me han dado a lo largo de 4 años de trabajo en el Laboratorio de Microbiología, su ayuda es invaluable.

Al Dr. Joaquín Tamariz, la Dra. Fabiola Jiménez, Dra. Carmen Cruz, Dr. Eduardo Díaz y Ma. de las Nieves Zavala Segovia, por su apoyo y enseñanzas que me permitieron culminar este proyecto en mi vida. Además, por ayudarme en la obtención de los espectros de RMN y EM, en el Centro Conjunto de Investigaciones Químicas UAEM–UNAM, en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN así como en el Instituto de Química de la UNAM.

A mi amigo y gran ejemplo, el Dr. Davir González Calderón por su gran apoyo tanto en la síntesis orgánica como en el proceso de publicación artículos. Gracias por permitirme colaborar en proyectos de Investigación, pero sobre todo, gracias por ser un excelente amigo.

A los miembros del Departamento de Química Orgánica de la UAEM por permitirme trabajar en el grupo de investigación desde el año 2010 a la fecha.

A mis compañeros de laboratorio y grandes amigos Tania, Itzel, Salvador, Carlos y Pepe por hacer divertido y ameno este periodo de tiempo, por brindarme su amistad y su apoyo incondicional.

A mis alumnos Catherine, Leonardo, David, Gerardo, Ulises y Geraldine que le han dado un nuevo sentido a mi desarrollo profesional, permitiéndome ser parte de proyectos que los han llevado a Congresos Nacionales o a la culminación de su trabajo de Servicio Social y Tesis. Hemos formado un gran equipo, sin su ayuda no hubiera podido realizar todo este trabajo.

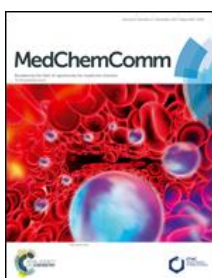
Los resultados que se encuentran en el presente trabajo han sido publicados en revistas científicas internacionales indizadas así como presentados en el XLII Congreso Nacional de Infectología y Microbiología Clínica, Puebla, 2017.

Dichos resultados están informados en un artículo publicado (*Med. Chem. Commun*) y un artículo enviado (*Eur. J. Med. Chem.*). Por fines prácticos, cada trabajo será referido a partir de ahora como **Proyecto 1** y **Proyecto 2** respectivamente.

En la sección de **Anexos** se adjuntan cada uno de estos trabajos en sus versiones correspondientes a las editoriales.

Los compuestos sintetizados fueron identificados por Resonancia Magnética Nuclear (^1H y ^{13}C) y Espectrometría de Masas de alta resolución (**HRMS**). Las copias de dichos análisis no se adjuntan en este trabajo, pueden consultarse en los sitios/ligas web abajo mencionados (**Supporting information/Supplementary Material**).

A continuación se describe la liga URL así como el *Digital Object Identifier* (DOI) para el **Proyecto 1**:



Synthesis and antifungal activity of novel oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives. *Med. Chem. Commun.*, **2017**, 8, 2258-2262. DOI: 10.1039/c7md00442g

<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/md/c7md00442g#!divAbstract>



Los resultados del **Proyecto 2** han sido enviados a la revista European Journal of Medicinal Chemistry con los siguientes datos:

Evaluation of the antifungal sensitivity of novel thienopyridines and imidazoles linked-1,2,3-triazole derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*
Fecha de envío: 20 de Mayo de 2018.

Durante el periodo de estudios en el posgrado, fueron realizados diversos análisis microbiológicos derivados de proyectos llevados a cabo por el Dr. en C. Q. Davir González Calderón (miembro del grupo de Investigación), como parte de las responsabilidades y objetivos multidisciplinarios de nuestro grupo de investigación. *Por lo que estos no pertenecen a los objetivos, metas y discusión de*

este trabajo. Dichos resultados se encuentran publicados en los siguientes papers.



Antifungal activity of 1'-homo-n-1,2,3-triazol-bicyclic carbonucleosides: a novel type of compound afforded by azide-enolate (3+2) cycloaddition. *Bioorganic Chemistry*, **2016**, 69, 1–6. DOI: 10.1016/j.bioorg.2016.09.003

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045206816300694>



Azide-enolate 1,3-dipolar cycloaddition in the synthesis of novel triazole-based miconazole analogues as promising antifungal agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2016**, 112, 60–65. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.02.013

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523416300836>



Los trabajos descritos en este trabajo se llevaron a cabo en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la UAEM, bajo la dirección de la **Dra. Ma. Paulina Aydee Gracia Fuentes Benítez** y el **Dr. Carlos González Romero**. Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el Departamento de Microbiología de la misma institución.



De manera extracurricular se llevó a cabo una estancia de investigación en la **Universitat de Barcelona** (España), bajo la dirección del **Dr. Jordi García Gómez** con el proyecto titulado “**Síntesis quiral para la obtención del ácido 2-(4-metilen-2-octil-5-oxotetrahidrofuran-3-il) acético**”. Se anexa resumen (**Anexo 4**).

Los resultados derivados de este trabajo de tesis han sido presentados en el XLII Congreso Nacional de Infectología y Microbiología Clínica, Puebla, 2017.

- Evaluación antifúngica de nuevos compuestos triazólicos en cepas de levaduras y hongos filamentosos. Cartel profesional A49. En el XLII Congreso Nacional de Infectología y Microbiología Clínica. Del 24 al 27 de Mayo de **2017**. Puebla, Puebla.
- Evaluación de la Sensibilidad antifúngica en *Candida* de nuevos compuestos derivados de oxazolin-2-onas. Cartel profesional A11. En el XLII Congreso Nacional de Infectología y Microbiología Clínica. Del 24 al 27 de Mayo de **2017**. Puebla, Puebla.

CONTENIDO

1. Resumen	1
2. Expectativas	4
2.1. Objetivo General	4
2.2. Objetivos Específicos	4
2.3. Hipótesis	4
2.4. Justificación	5
3. Antecedentes	6
3.1. Micosis oportunistas	6
3.2. Resistencia a los antimicóticos	7
3.3. Resistencia a los antibióticos	8
3.4. Importancia de antimicóticos azólicos	9
3.5. Oxazolidinonas	11
3.6. Reacciones de cicloadición	13
3.7. Naturaleza de los compuestos dipolarófilos y 1,3-dipolos	13
a) Azidas como especies dipolares	14
b) Enolatos como compuestos dipolarófilos	18
c) Cicloadiciones [3+2] azida-enolato	21
4. Discusión de resultados	23
5. Desarrollo experimental	32
6. Conclusiones	33
Anexo 1. Caracterización de compuestos del proyecto 1b	34
Anexo 2. Resultado de pruebas de sensibilidad antifúngica	45
Anexo 3. Artículo publicado (Proyecto 1)	47
Anexo 4. Artículo enviado (Proyecto 2)	52
Anexo 5. Informe de estancia de investigación	58

1. Resumen

En las últimas décadas las micosis han elevado su magnitud y trascendencia en la salud pública, principalmente las micosis oportunistas. Dentro de esta patología, las micosis superficiales son las afecciones más comunes de la piel y mucosas. Son producidas por hongos levaduriformes como *Candida albicans* y dermatofitos. El tratamiento de estas micosis se realiza en muchas ocasiones en forma empírica, lo cual puede alterar la presentación de la lesión y generar resistencia a los mismos debido a la gran capacidad de adaptación. Por otra parte, se ha incrementado la frecuencia de micosis como resultado del aumento de enfermedades que deprimen el sistema inmunológico, tales como cáncer, diabetes mellitus, enfermedades coronarias, entre otras.

Es bien conocido que los heterociclos que contienen nitrógeno, como los imidazoles y triazoles, así como las oxazolidinonas, cuentan con importantes actividades biológicas como anticonvulsivos, antidepresivos, antivirales, antitumorales, anti-HIV, antibacterianos, antialérgicos, propiedades herbicidas y fungicidas.

Por lo anterior, se llevó a cabo un estudio para realizar la síntesis de nuevos antimicóticos. Para este fin, se sintetizaron compuestos utilizando los grupos funcionales necesarios para que presenten actividad biológica, tales como son el triazol, oxazolin-2-onas *N*-sustituidas y sulfonas.

Se realizó la metodología sintética para la obtención de 1,2,3-triazoles a través de cicloadiciones (3+2) azida-enolato. La versatilidad de tal metodología se demostró mediante su aplicación en la síntesis de nuevos triazoles derivados de 4,5-dimetiloxazolin-2-onas (Proyecto 1-A) y 4,5-difeniloxazolin-2-onas (Proyecto 1-B), así como de triazoles derivados de tienopiridinas (Proyecto 2). Como parte de un trabajo multidisciplinario, estos compuestos fueron evaluados biológicamente (actividad antimicótica) en especies microbiológicas filamentosas y levaduriformes de importancia clínica.

Para una comprensión general del presente trabajo, se describen a continuación los Abstracts y Graphical Abstract para cada uno de dichos proyectos,

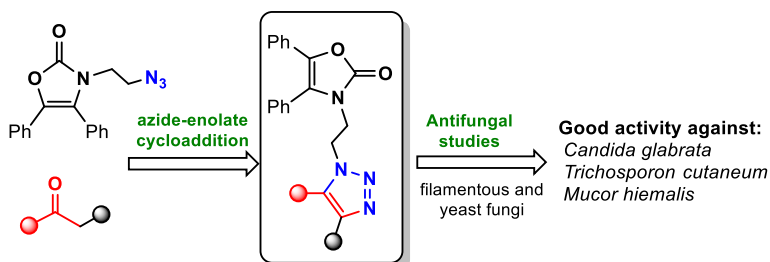
mismos que pueden ser vistos en las versiones electrónicas disponibles en las plataformas web de cada editorial.

PROYECTO 1. ABSTRACT:

Novel oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives (4a–k) were synthesized by straightforward and versatile azide–enolate (3+2) cycloaddition. The series of compounds was screened for antifungal activity against four filamentous fungi as well as six yeast species of *Candida* spp. According to their efficiency and breadth of scope, they can be ordered as 4k > 4d > 4h > 4a, especially in relation to the activity displayed against *Candida glabrata* ATCC-34138, *Trichosporon cutaneum* ATCC-28592 and *Mucor hiemalis* ATCC-8690, i.e. compounds 4d, 4h and 4k showed excellent activity against *C. glabrata* (MIC 0.12, 0.25 and 0.12 µg/mL, respectively), better than that of itraconazole (MIC 1 µg/ml). The activity of compound 4d (MIC = 2 µg/mL) was higher than that observed for the standard antifungal drug (MIC = 8 µg/mL) against *Trichosporon cutaneum*, while compound 4k displayed an excellent antimycotic activity against *Mucor hiemalis* (MIC = 2 µg/mL vs. 4 µg/mL for itraconazole). In addition, we describe herein a novel mild and ecofriendly synthetic protocol for obtaining β-ketosulfones (adducts to afford compounds 4a–k) from α-brominated carbonyls in an aqueous nanomicellar medium at room temperature.

GRAPHICAL ABSTRACT.

Synthesis and antifungal activity of novel oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives.



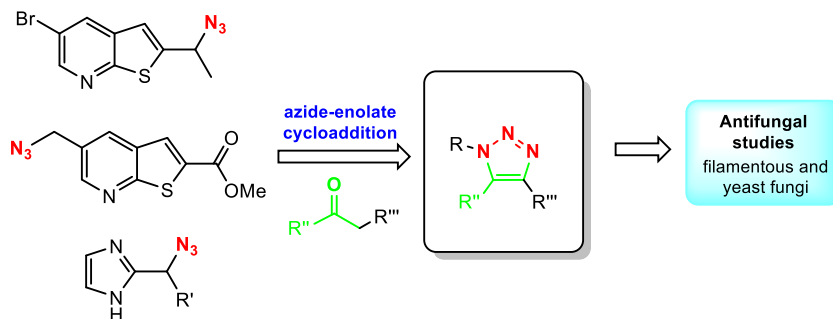
PROYECTO 2. ABSTRACT:

Six novel compound involving 1,4,5-trisubstituted triazole moieties were synthesized by azide enolate 1,3-dipolar cycloaddition. The antifungal activity of these compounds was evaluated in vitro against four filamentous fungi, including *Aspergillus fumigatus* ATCC 16907, *Trichosporon cutaneum* ATCC 28592, *Rhizopus oryzae* ATCC 10329, and *Mucor hiemalis* ATCC 8690 as well as six species of *Candida*, *C. albicans* ATCC 10231, *C. utilis* ATCC 9226, *C. tropicalis* ATCC 13803, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 34138 and *C. krusei* ATCC 14243 as yeast specimens. These studies suggest that compounds 1b, 2a, 2b and 3b can be considered as candidates for future complementary biological studies due to their good/excellent antifungal activities.

RESUMEN

GRAPHICAL ABSTRACT.

Evaluation of the antifungal sensitivity of novel thienopyridine and imidazol linked-1,2,3-triazole derivatives.



2. Expectativas

2.1. Objetivo General.

- ♦ Desarrollar una ruta sintética para la preparación de oxazolin-2-onas N-sustituidas que contengan los grupos funcionales necesarios para la presencia de actividad biológica, tales como son el triazol, sulfonas, anillos aromáticos y halógenos.

2.2. Objetivos Específicos.

- ♦ Obtener en el laboratorio las materias primas halogenadas y sulfonas necesarias para la obtención de las nuevas oxazolin-2-onas.
- ♦ Preparar los compuestos mediante una síntesis convergente y optimización de la misma.
- ♦ Sintetizar 1,2,3-triazoles mediante cicloadiciones (3+2) azida-enolato a partir de oxazolin-2-onas y β -cetosulfonas.
- ♦ Sintetizar 1,2,3-triazoles derivados de tienopiridinas a través de la metodología descrita (cicloadiciones [3+2] azida-enolato).
- ♦ Realizar pruebas de sensibilidad antifúngica de los productos finales en diversas cepas de levaduras y hongos filamentosos de importancia clínica, para determinar la actividad antifúngica de los compuestos sintetizados.

2.3. Hipótesis.

- ♦ Las β -cetosulfonas pueden obtenerse a través del uso del surfactante SPGS-550-M y *p*-toluensulfinato de sodio, siendo una metodología "open flask" y libre de disolventes orgánicos.
- ♦ La síntesis de las nuevas oxazolin-2-onas en la cual se incorporen núcleos de triazol y sulfonas, es posible mediante una síntesis convergente utilizando metodologías convencionales.

- ♦ Los heterociclos 1,2,3-triazoles pueden obtenerse vía cicloadiciones 1,3-dipolar mediante el acoplamiento entre una cetona activada del tipo R'COCH₂R'' y una alquil azida preparada a partir de halogenuros de alquilo.
- ♦ Los compuestos sintetizados pueden presentar actividad biológica antimicótica, debido a los núcleos farmacóforos que contienen (oxazolin-2-ona, triazol, sulfona).

2.4. Justificación

Los núcleos de oxazolin-2-onas y 1,2,3-triazoles son de gran importancia debido a la diversidad de actividad biológica que confieren, resaltando las actividades antimicrobiana¹, antifúngica², anticancerígena³, entre otras. Por esta razón, la síntesis de dichos compuestos es motivo de constante investigación para obtener metodologías versátiles, fáciles y amigables con el ambiente.

En la última década se ha informado el incremento de las infecciones fúngicas y bacterianas como consecuencia de las condiciones de inmunosupresión de los pacientes, tales como el uso de quimioterapia intensiva en pacientes oncohematológicos y uso de fármacos antirrechazo en pacientes receptores de trasplante⁴, el aumento de pacientes con VIH-SIDA (CENSIDA-2010), en el cual el Estado de México se ubica en el tercer lugar de casos de SIDA en México; así como la resistencia que los microorganismos han creado a los fármacos de elección⁵. Estas situaciones conllevan a la necesidad de desarrollar nuevos compuestos que contengan actividad farmacológica que contrarreste dichos cuadros patológicos. Es por esta razón que la síntesis de nuevos 1,2,3-triazoles derivados de oxazolin-2-onas y tienopiridinas, ofrece una nueva alternativa para el tratamiento de infecciones presentes en pacientes inmunodeprimidos e inmunocompetentes.

-
- (1) Bruno Leal, Ilídio F. Afonso, Carlos R. Rodrigues, Paula A. Abreu, et. al. Antibacterial profile against drug-resistant *Staphylococcus epidermidis* clinical strain and structure-activity relationship studies of 1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine and thieno[2,3-*b*]pyridine derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 16 (17), pp 8196-8204.
 - (2) (a) Wiebke Fugel, Anselm Erich Oberholzer, Bernhard Gschloessl, Ron Dzikowski, Narkiss Pressburger, Lutz Preu, Laurence H. Pearl, Blandine Baratte, Morgane Ratin, Ilya Okun, Christian Doerig, Sebastian Kruggel, Thomas Lemcke, Laurent Meijer, and Conrad Kunick. 3,6-Diamino-4-(2-halophenyl)-2-benzoylthieno[2,3-*b*]pyridine-5-carbonitriles Are Selective Inhibitors of Plasmodium falciparum Glycogen Synthase Kinase-3. *J. Med. Chem.*, **2013**, 56 (1), pp 264-275. (b) Akhilesh K. Verma, Siva K. Reddy Kotla, Deepak Choudhary, Monika Patel, and Rakesh K. Tiwari. Silver-Catalyzed Tandem Synthesis of Naphthyridines and Thienopyridines via Three-Component Reaction. *J. Org. Chem.* **2013**, 78, pp 4386-4401.
 - (3) Afaf K. Elansary, Ashraf A. Moneer, Hanan H. Kadry, and Ehab M. Gedawy. Synthesis and Anticancer Activity of Some Novel Fused Pyridine Ring System. *Arch Pharm Res.* **2012**, 35, (11), pp 1909-1917.
 - (4) Galal AM, Ross SA, Jacob M, ElSohly MA. Antifungal Activity of Artemisinin Derivatives. *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 1274-1276.
 - (5) Michaela Serpi, Valentina Ferrari, and Fabrizio Pertusati. Nucleoside Derived Antibiotics to Fight Microbial Drug Resistance: New Utilities for an Established Class of Drugs? *J. Med. Chem.* **2016**, 59, pp 10343-10382.

3. Antecedentes

IMPORTANTE: Las publicaciones de los trabajos (**Anexos**) que aquí se reportan han involucrado una descripción sustancial y concisa de antecedentes para cada uno de los proyectos expuestos; dicha información ha sido evaluada y sugerida por réferis internacionales y por los editores de cada una de las revistas. Con la intención de **evitar la redundancia**, en esta sección se abordarán únicamente conceptos que no fueron descritos en dichos *papers*.

3.1. Micosis oportunistas.

Las micosis oportunistas son causadas por hongos saprófitos inocuos que en condiciones normales no generan enfermedades al hombre. En la actualidad estas enfermedades, lejos de desaparecer, se incrementan día a día. El oportunismo de los microorganismos se ha favorecido por una errónea administración del tratamiento antifúngico, tanto por fármacos de amplio espectro como por una dosis inadecuada. Es igual de importante el aumento de enfermedades hematológicas, metabólicas y el incremento de trasplantes de órganos⁶.

Las micosis por hongos oportunistas, son capaces de presentarse provocando enfermedades de todo tipo y a todos los niveles, es decir, superficiales, subcutáneas, profundas y sistémicas o generalizadas.

(6) Galal AM, Ross SA, Jacob M, ElSohly MA. Antifungal Activity of Artemisinin Derivatives. *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, pp 1274-1276.

ANTECEDENTES

De entre las micosis emergentes, la más importante es la candidiasis, la cual representa el 7.15% de todas las micosis en pacientes inmunocompetentes, siendo el 25% micosis superficiales⁷. Por otra parte, la candidiasis es la infección micótica más común en pacientes con VIH, donde se ha notado una prevalencia del 30 al 90%⁸. De los casos en que se presenta en forma mucocutánea, el 35% afecta uñas, el 30% afecta la piel y el 20 % afecta mucosas. Por otra parte se ha informado que de las formas profundas y sistémicas de esta patología el 80-90% se presentan en pacientes con SIDA y el 1-16% en pacientes con catéteres.

Para contrarrestar la candidiasis, se han empleado algunos antimicóticos azólicos como miconazol, clotrimazol, y ketoconazol, además de triazoles como el fluconazol, fármacos que en ocasiones no logran erradicar al hongo, ocasionando recaídas del paciente y adaptación del hongo en el organismo, provocando micosis sistémicas⁹.

Por otra parte, se ha descubierto que las oxazolidinonas cuentan con una importante actividad biológica como antibióticos y antimicóticos principalmente.

3.2. Resistencia a los antimicóticos.

El desarrollo de resistencias a los antifúngicos es un hecho inevitable, dada la capacidad de adaptación a los cambios ambientales que presentan los hongos. En la resistencia del hongo al antifúngico, desempeñan un papel muy importante factores como la resistencia innata o primaria (presente antes de la exposición al antifúngico) y la adquirida (desarrollada tras el contacto con el antifúngico), la especie fúngica, el tamaño de la población fúngica, el cambio fenotípico y la capacidad para formar biopelículas. Sin embargo, desde el punto de vista clínico es necesario considerar, no sólo la resistencia in vitro sino también la resistencia clínica, ya que el tratamiento depende de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del antifúngico así como de otros factores como la penetración y distribución del fármaco, su naturaleza fungistática o fungicida, su mecanismo de acción y la interacción con otros fármacos, así como del estado del sistema inmunitario del paciente, del lugar de la infección y del potencial incumplimiento terapéutico¹⁰. Figura 1.

(7) Pulido CG, Camacho EA, Criado J. Infecciones por hongos levaduriformes: Candida sp. y Cryptococcus sp. *Medicine*. 2006, 9, pp 57.

(8) Aldama BY, Bellón LS. Tratamiento de la Candidiasis Oral en pacientes infectados por VIH. *Gaceta Médica*. 2004, 6, pp 3.

(9) Astrada L LS, Salati N, Libeco F, Morelato RA, Benitez MB. Tratamiento antifúngico tópico en pacientes con Candidiasis crónica bucal. *Med Oral*. 2002, 7, pp 260-270.

(10) Iwata, C. T T., Inoue, T., Kamei, K., Murakami, K. Allyltitanium triphenoxide: selective cleavage of oxiranes at the more substituted carbon atom. , *Chem. Commun*. 1990, (0), pp 906-908.

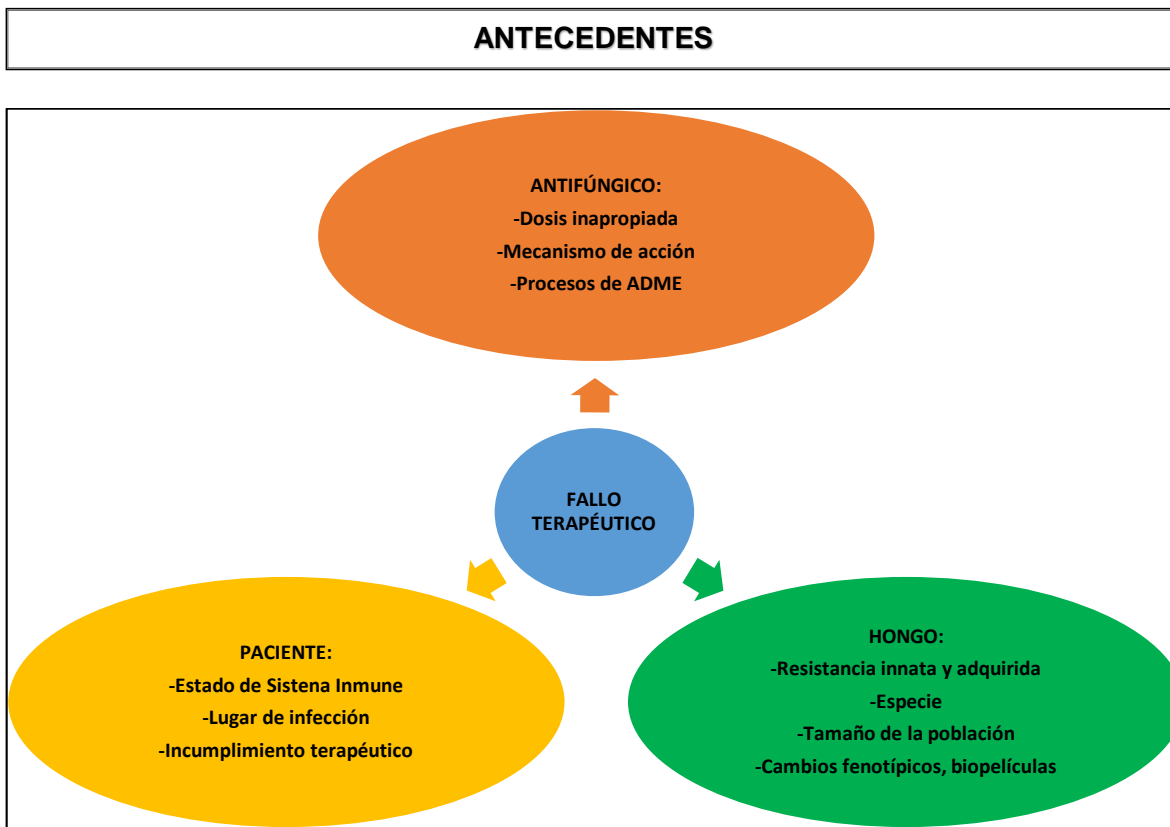


Figura 1. El fracaso terapéutico en las micosis.

Tras la introducción del fluconazol en la práctica clínica en 1988, empezaron a surgir resistencias¹¹, de forma similar a lo ocurrido con el ketoconazol en el tratamiento de candidiasis mucocutáneas crónicas^{12,13}.

Se ha descrito cómo las resistencias a fluconazol originan problemas en al menos un 10% de los pacientes de sida en fase avanzada¹⁴. Estas resistencias se correlacionan directamente, y en muchos casos, con las dosis de fluconazol administradas y/o la duración del tratamiento, siendo por tanto de naturaleza adquirida.

3.3. Resistencia a los antibióticos.

La resistencia a múltiples antibióticos en bacterias patógenas aumenta la morbimortalidad de los pacientes infectados y es una grave amenaza para la salud pública por su capacidad de diseminación. Por ambos motivos, la detección rápida de las bacterias multiresistentes es crucial¹⁵.

(11) Yurkanis Bruce P. *Química Orgánica*. 5th ed. México: Pearson Prentice Hall. 2008.

(12) Salamanca M, Constain TVW, Jaramillo G, Paula. Estudio experimental y teórico de la síntesis de N-alkil- nitroimidazoles. *Rev Fac Quím Farm*. 2010,17, (S2), pp 199-208.

(13) Wade L. G. *Química Orgánica*. Pearson Prentice Hall. Madrid; 2004.

(14) Corey, E. J.; Choi, S. Y. S. Efficient Enantioselective Syntheses of Chloramphenicol and (D)-threo- and (D)-erythro-sphingosine. *Tetrahedron Lett*. 2000, 41, (16), pp 2765-2768.

(15) Oteo J, Belén Aracil M. Caracterización de mecanismos de resistencia por biología molecular: Staphylococcus aureus resistente a metililina, β -lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015, 33, (2), 27-33.

ANTECEDENTES

La resistencia a los antibióticos a menudo se considera que es un rasgo adquirido por bacterias previamente susceptibles, esto se puede atribuir a la adquisición de nuevos genes o la ocurrencia de mutaciones espontáneas dentro de los genes que se transmiten posteriormente como las repeticiones bacterianas. Además de la capacidad de las bacterias a la resistencia 'adquirida', también son intrínsecamente resistentes a diferentes clases de antibióticos; un rasgo que se encuentra universalmente dentro del genoma de una especie bacteriana.

El ejemplo convencional de resistencia intrínseca a los antibióticos es la resistencia múltiple de fármacos (MDR) exhibida por bacterias Gram-negativas, que son insensibles a muchas clases de antibióticos eficaces para bacterias Gram-positivas. La base molecular de este fenómeno es la presencia de la membrana externa Gram-negativa (OM), que es impermeable a muchas moléculas, y la expresión de numerosas bombas de flujo de MDR que reducen eficazmente la concentración intracelular del fármaco¹⁶.

3.4. Importancia de antimicóticos azólicos.

Los compuestos azólicos forman parte de un grupo de antimicóticos que ha aumentado su importancia debido a que la mayoría de los hongos levaduriformes han causado resistencia a los antimicóticos comerciales^{17,18}, por lo cual el tratamiento de las micosis se ha complicado significativamente.

Es bien conocido que los heterociclos que contienen nitrógeno, como el imidazol y 1,2,3-triazol, presentan importantes actividades biológicas como anti-HIV, antibacterianos, antimicóticos, antialérgicos, propiedades herbicidas y fungicidas^{19, 20}, como se muestra en la figura 2.

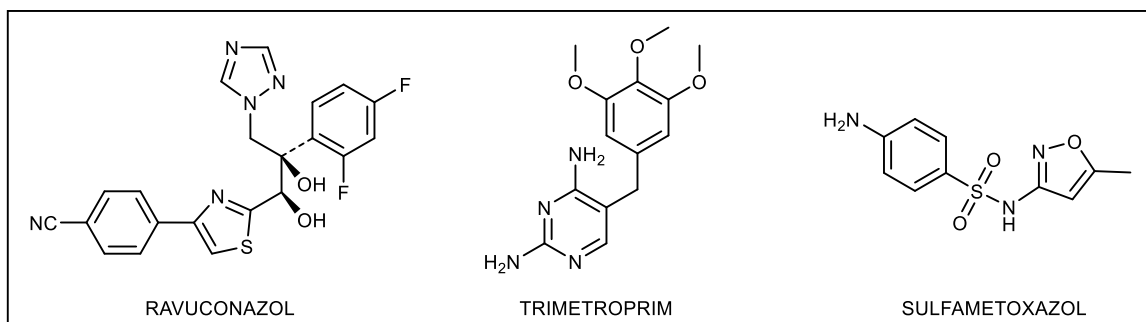


Figura 2. Fármacos con heterociclos conteniendo nitrógeno o azufre.

- (16) Cox G, Wright GD. Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *Int. J. Med. Microbiol.* **2013**, 303, (6-7), pp 287-292.
- (17) Pfaller M.A., Diekema D.J. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *J. Clin. Microbiol.* **2004**, (42), pp 4419-4431.
- (18) Coleman D.C., Rinaldi M.G., Haynes K.A., et al. Importance of *Candida* species other than *Candida albicans* as opportunistic pathogens. *Med. Mycol.* **1998**, 36, (1), pp 156-165.
- (19) Barrenetxea Ziarrusta G. Vulvovaginitis candidiásica. *Rev. Iberoam. Micol.* **2002**, (19), pp 22-24.
- (20) Harold Estrada M. Modelos de Prevención en la lucha contra el VIH/SIDA. *Acta Bioethica.* **2006**, 12, (1).

ANTECEDENTES

El concepto de agente antimicótico o antifúngico incluye a aquellas sustancias que tienen la capacidad de producir una alteración en la estructura de la célula en diferentes niveles, que consiga inhibir su desarrollo alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped²¹.

La anfotericina B (Figura 3) se sintetizó a inicio del siglo XX, siendo el primer compuesto eficaz empleado para el tratamiento de estas infecciones²².

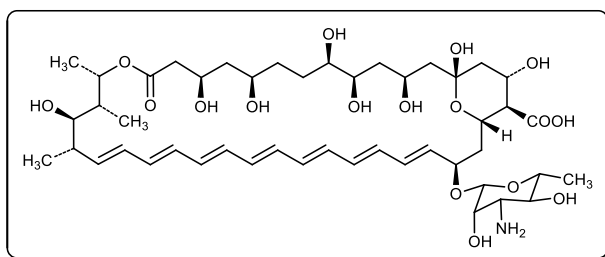


Figura 3. Estructura de la anfotericina B.

Para contrarrestar la candidiasis, se han empleado algunos antimicóticos azólicos como miconazol, clotrimazol, y ketoconazol, además de triazoles como el fluconazol, fármacos que en ocasiones no logran erradicar al hongo, ocasionando recaídas del paciente y adaptación del hongo en el organismo, lo que provoca micosis a nivel sistémico²³. Por esta razón los compuestos imidazólicos son un grupo de antimicóticos que ha venido aumentando en importancia.

Las estructuras de los antifúngicos tienen gran variedad pero la presencia de ciclos de 5 átomos en los cuales el nitrógeno, oxígeno o azufre forman parte del ciclo, pudiera considerarse un grupo farmacóforo²⁴, pues en ausencia de éste las moléculas pierden su actividad biológica contra los hongos.

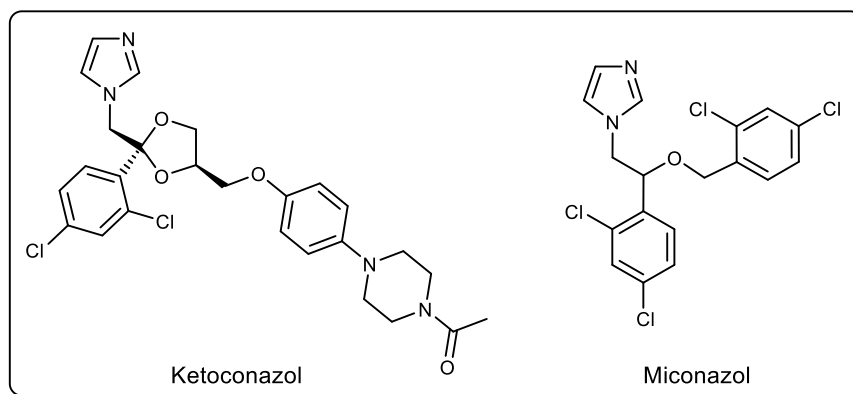


Figura 4. Antifúngicos comerciales.

(21) Collier Leslie, Oxford John. *Virología humana*. 3rd ed. Londres; 2006.

(22) Rojas Espinoza O. *Inmunología de memoria*. 3rd ed. México: Médica Panamericana. 2006.

(23) Gómez Caro L., Lemus Hernández M. Diseño de un farmacóforo a partir de moléculas con actividad antituberculosa mediante el programa Hyperchem 7.1 Professional. *Investigación, Sociedad y Desarrollo*. 2008. pp 242-45.

(24) Katritzky, A. R., Cheng, D., Musgrave, R. P. Applications of benzotriazole methodology in heterocycle ring synthesis and substituent introduction and modification. *Heterocycles*. 1997, 44, 67.

ANTECEDENTES

En muchos casos la aparición de anillos bencénicos con sustituyentes halogenados como cloro o flúor, cercanos al anillo de imidazol o triazol, ayudan a aumentar la respuesta biológica de la molécula, pues le confieren lipofilia y mayor eficiencia frente a infecciones fúngicas²⁵.

3.5. Oxazolidinonas.

Las oxazolidinonas inicialmente surgieron como auxiliares de Evans, empleados para síntesis quirales²⁶, pero se ha demostrado que este tipo de heterociclos poseen una gran actividad biológica, entre las que destacan como antidepresivos, antifúngicos, antihipertensivos, anticancerígenos (TNKS inhibidores de Wnt, cáncer colon-rectal)²⁷ y antibióticos, siendo esta última su actividad más importante ya que actúa en la inhibición de la biosíntesis proteica²⁸. Recientemente se ha encontrado que las oxazolidinonas son útiles en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares como el anacetrapib²⁹. Figura 5.

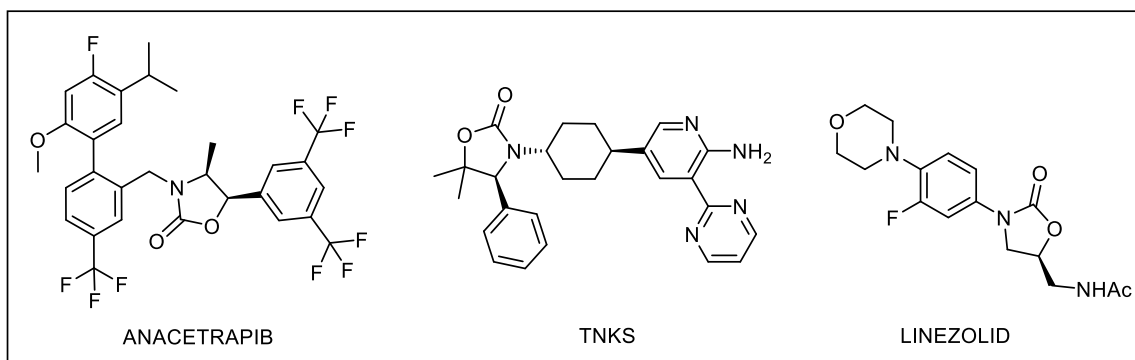


Figura 5. Oxazolidinonas comerciales.

Así mismo se han realizado estudios de compuestos derivados de oxazolidinonas (oxazolidona y oxazolin-2-ona) comprobando que presentan una importante actividad antimicótica en cepas de *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium chrysogenum*³⁰. Figura 6.

(25) Zhou, B., Emnondson, S., Padron, J., Danishefsky, S. Synthetic Explorations in the Saframycin-Ecteinasacidin Series: Construction of Major Chiral Subunits through Catalytic Asymmetric Induction. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, pp 2039-2042.

(26) Jong-Gab Jun S-MK, Hyunyoung Jin. Introduction of a New Chiral Oxazolidin-2-one Derived from D-Mannitol and Its Applications as a Chiral Auxiliary. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2002;23(5):749-757.

(27) Huang H, Guzman-Perez A, Acquaviva L, et al. Structure-Based Design of 2-Aminopyridine Oxazolidinones as Potent and Selective Tankyrase Inhibitors. *ACS Med. Chem. Lett.* 2014;4(12):1218-1223.

(28) Komine T, Kojima A, Asahina Y, et al. Synthesis and Structure-Activity Relationship Studies of Highly Potent Novel Oxazolidinone Antibacterials. *J. Med. Chem.* 2014;51(20):6558-6562.

(29) Thompson CF, Ali A, Quraishi N, et al. Discovery of Substituted Biphenyl Oxazolidinone Inhibitors of Cholesteryl Ester Transfer Protein. *ACS Med. Chem. Lett.* 2014;2(6):424-427.

(30) Neha Pandita, Rajeev K Singlab, Birendra Shrivastavaa. Preliminary Investigation of Antifungal Activity of 3-(3-fluoro-4-piperazine-1-phenyl)-1,3-oxazolidin-2-ones. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2012;2(3):245-249.

ANTECEDENTES

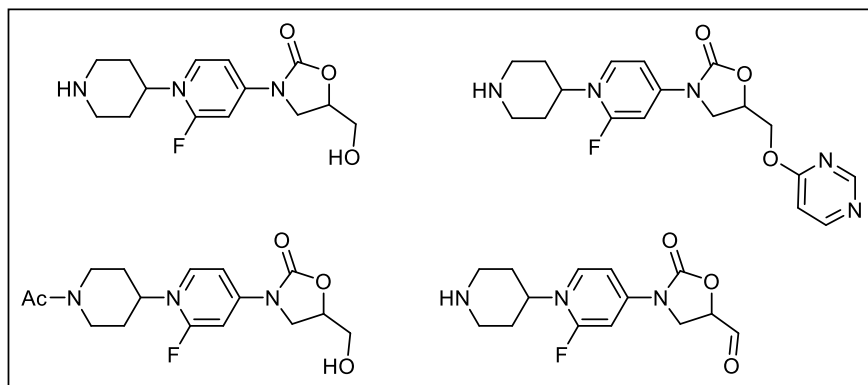


Figura 6. Oxazolidonas con actividad antimicótica.

Por otra parte, en 2012 Kavita Devi y colaboradores describieron la síntesis de compuestos espiro derivados de oxazolidinona (figura 7) a los cuales realizaron estudios microbiológicos con cepas de *E. coli*, *B. subtilis*, *A. niger* y *C. albicans*³⁵.

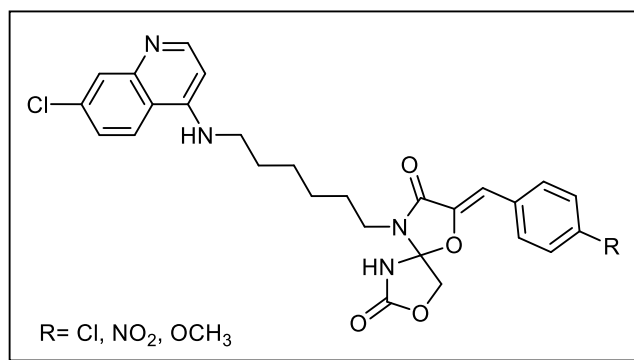


Figura 7. Compuestos espiro de oxazolidinona.

Con base a los antecedentes antes mencionados se llevó a cabo la síntesis de nuevos compuestos los cuales incluyen en su estructura núcleos de oxazolin-2-onas, triazoles y sulfonas, mediante la síntesis de cicloadición [3+2] azida-enolato empleando azidas y compuestos dicarbonílicos (figura 8).

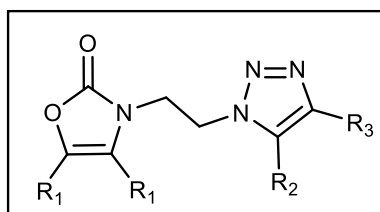


Figura 8. Estructura general de los compuestos sintetizados (oxazolin-2-onas).

(31) Kavita Devi, Yumna Asmat, Parul Sahi, Swapnil Sharma, Jaya Dwivedi. Synthesis and Antimicrobial Studies of Oxazolidinone Derivatives. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **2012**, 14, (2), pp 124-129.

3.6. Reacciones de cicloadición.

Las reacciones en Química Orgánica no tienen un límite en cuanto a número o mecanismos posibles, sin embargo, se pueden observar algunos patrones generales que permiten clasificar las reacciones en diversos grupos según las similitudes que hay entre ellas. Es muy importante tomar en cuenta que cada reacción tiene un mecanismo que explica cómo sucede dicho proceso, aunque no siempre es clara la descripción de pasos. De tal manera que las reacciones orgánicas se pueden organizar en la siguiente clasificación: **a) adición, b) eliminación, c) sustitución y d) transposición**. Dentro de ésta última clasificación se encuentran descritas las **reacciones pericíclicas** y su característica principal es que presentan estructuras de transición cíclicas, debido a que los electrones se mueven en círculo y no generan intermediarios de reacción ni cargas negativas o positivas, por lo tanto, se trata de un mecanismo concertado³².

Las reacciones de **cicloadición** pueden considerarse como una de las herramientas más importantes para la síntesis orgánica. En una reacción de cicloadición se involucran dos moléculas diferentes que contienen enlaces π y son clasificadas de acuerdo al número de electrones π que interactúan en la reacción. Las cicloadiciones 1,3-dipolares son las más versátiles e importantes para la preparación de heterociclos de cinco miembros, llevándose a cabo a partir de un **1,3-dipolo** y un **dipolarófilo**. Esta cicloadición procede por un mecanismo concertado del tipo [3+2] y la interacción entre reactivos asimétricos pueden formar dos isómeros dependiendo de una posición relativa del o los sustituyentes³³. Los productos obtenidos en estas reacciones pueden considerarse como resultantes de una cicloadición térmica según las reglas de Woodward-Hoffmann y la teoría de orbitales frontera de Fukui³⁴.

3.7. Naturaleza de los compuestos dipolarófilos y 1,3-dipolos.

En las cicloadiciones 1,3-dipolares el componente de tres átomos ('X', 'Y' y 'Z') es de naturaleza isoeléctrica, es decir, un fragmento que forma un **dipolo** electrónico a nivel molecular causado por la deslocalización electrónica a lo largo de los tres átomos, teniendo un sistema conjugado de tres orbitales p a lo largo de los mismos. Por lo anterior, podemos decir que un dipolo es una molécula en la que la distribución de carga no es simétrica.

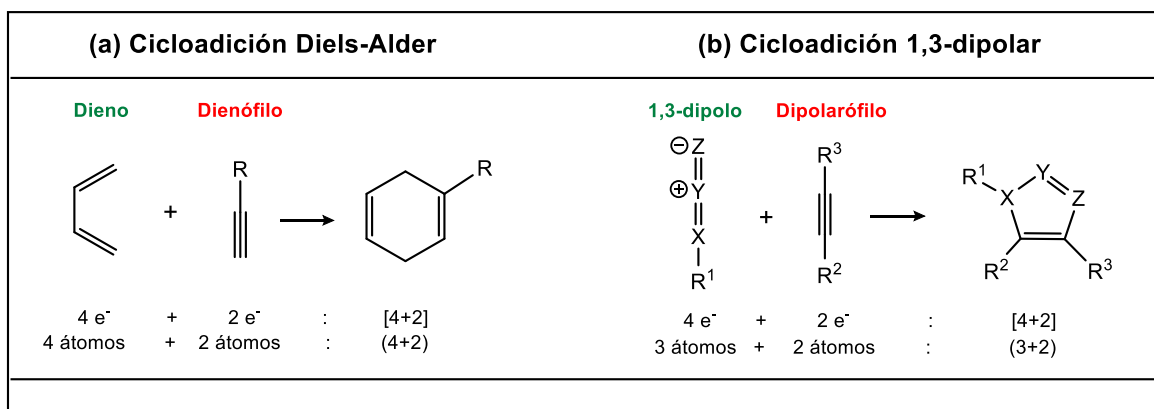
(32) S. Kumar, V. Kumar, S.P. Singh, *Pericyclic Reactions: A Mechanistic and Problem Solving Approach*. Chapter 1– Pericyclic Reactions and Molecular Orbital Symmetry, Academic Press- Elsevier, **2016**, pp. 1-3.

(33) Felipe A. La Porta, Teodorico C. Ramalho, Régis T. Santiago, Marcus V. J. Rocha, Elaine F. F. da Cunha. Orbital Signatures as a Descriptor of Regioselectivity and Chemical Reactivity: The Role of the Frontier Orbitals on 1,3-Dipolar Cycloadditions. *J. Phys. Chem. A*. **2011**, 115, pp 824–833.

(34) Andrés Suárez. Reacciones de cicloadición 1,3-dipolares a alquinos catalizadas por cobre. *An. Quím.* **2012**, 108, (4), pp 306–313.

ANTECEDENTES

Para que un dipolo pueda participar en una cicloadición deberá disponer de cargas formales, es decir, se tendrá un átomo con carga positiva y uno con carga negativa. Los números **1,3** hacen alusión a la separación del número de átomos (en alguna de sus formas resonantes) entre ambas cargas, y son los puntos de las nuevas conexiones que se formarán. Si comparamos la naturaleza de las cicloadiciones 1,3-dipolares con la **cicloadición Diels-Alder**, podemos relacionar características similares entre un dieno y un dipolo, esquema 1. La cicloadición Diels-Alder involucra la participación de un dieno, un estado de transición con 6 electrones π y 6 átomos involucrados para la formación de un ciclo de seis miembros. Por lo anterior concluimos que para la formación de un anillo de cinco miembros es necesario involucrar: **a)** un componente de tres átomos capaz de comportarse como un equivalente a cuatro electrones de un dieno, y **b)** un componente de 2 átomos capaz de involucrar solo 2 electrones (al igual que un dienófilo), lo que nos llevaría a una cicloadición [4+2] pero del tipo [3+2]³².



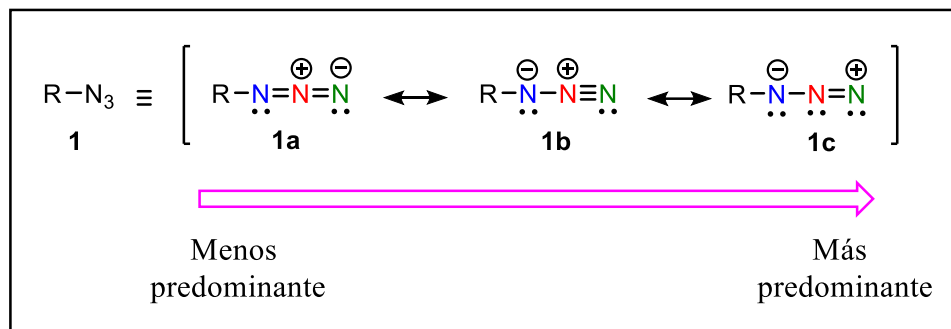
Esquema 1. Comparación entre las cicloadiciones D-A y 1,3-dipolares.

a) Azidas como especies dipolares.

Las azidas son intermediarios sintéticos de gran importancia debido a que son altamente versátiles, esto conlleva a que su química sea ampliamente conocida, aportando así compuestos nitrogenados útiles en la química, la medicina, la biología y la ciencia de los materiales. Una de las propiedades más importantes de las azidas son las formas resonantes que pueden presentar (esquema 2), lo cual les permite reaccionar regioselectivamente con electrófilos y nucleófilos.

(32) S. Kumar, V. Kumar, S.P. Singh, *Pericyclic Reactions: A Mechanistic and Problem Solving Approach*. Chapter 1– Pericyclic Reactions and Molecular Orbital Symmetry, Academic Press- Elsevier, 2016, pp. 1-3.

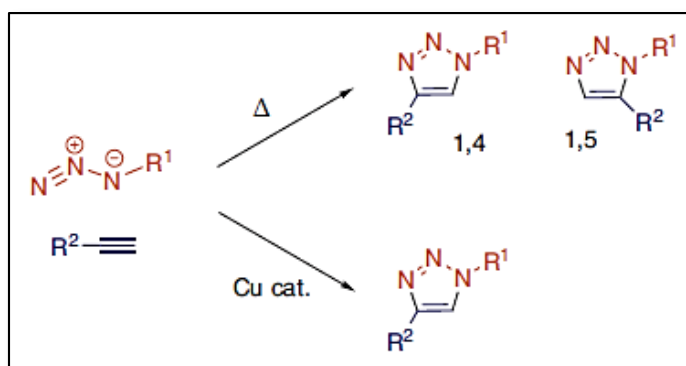
ANTECEDENTES



Esquema 2. Estructuras resonantes del grupo azida (N_3).

La forma resonante **1c** (predominante, aunque se debe considerar la naturaleza del sustituyente -R) representa una especie 1,3-dipolar que le permite reaccionar en procesos de cicloadición y, a su vez, le confiere la capacidad de reaccionar regioselectivamente con electrófilos y nucleófilos.

La descomposición de las azidas se encuentra muy favorecida termodinámicamente, aunque debido a su elevada estabilidad cinética pueden ser aisladas. La reacción de azidas con alquinos es una cicloadición [3+2] térmica concertada que conduce, salvo en casos muy favorables, a la formación de 1,2,3-triazoles (Esquema 3).



Esquema 3. Cicloadición [3+2] catalizada por cobre entre azidas y alquinos.

La formación de los heterociclos resultantes de estas cicloadiciones regularmente se encuentra favorecida termodinámicamente, sin embargo la elevada energía de activación de estos procesos hace que en muchas ocasiones tengan que llevarse a cabo dichas reacciones mediante el empleo de calentamientos prolongados. Estas condiciones experimentales pueden dar lugar a rendimientos bajos si el derivado 1,3-dipolar no es muy estable.³³

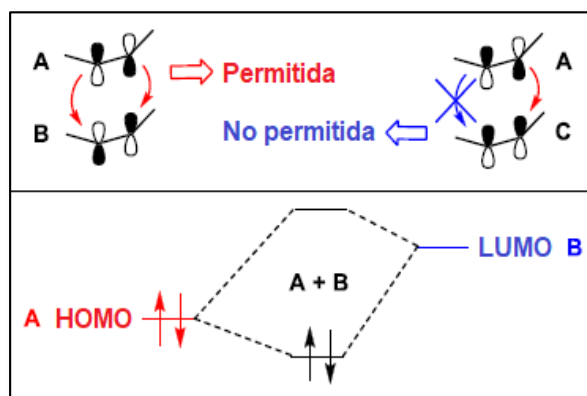
(33) Andrés Suárez. Reacciones de cicloadición 1,3-dipolares a alquinos catalizadas por cobre. *An. Quím.* **2012**, 108 (4), pp 306–313

ANTECEDENTES

El mecanismo de estas reacciones es concertado, es decir, transcurre en un solo paso y no presenta separación de carga. La energía de activación necesaria para que se den estos procesos puede ser suministrada en forma de calor (*condiciones térmicas*) o en forma de luz (*condiciones fotoquímicas*). El hecho de que las reacciones pericíclicas sean factibles o no bajo unas determinadas condiciones de reacción (térmicas o fotoquímicas), así como la geometría y estereoquímica de los productos finales viene determinado por las **reglas de Woodward-Hoffmann**³⁴ o reglas de la simetría orbital, las cuales nos dicen que para que se pueda dar una determinada reacción es indispensable que los orbitales moleculares que participan en la formación del nuevo enlace tengan la misma simetría, es decir, que los lóbulos que interactúan tengan la misma fase y distribución espacial.

Estas reglas están relacionadas con la teoría de los orbitales frontera, desarrollado por Fukui, que señalan que para predecir el desarrollo de las reacciones pericíclicas hay que considerar dos **orbitales moleculares (OM)** los llamados orbitales frontera: el **HOMO** (Highest Occupied Molecular Orbital) y el **LUMO** (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)³⁵.

Para que la reacción se lleve a cabo, el HOMO de una molécula debe solaparse con el LUMO de la otra, dicho solapamiento resulta en un orbital más bajo y otro más alto y el par de electrones involucrado, se estabiliza respecto a la situación inicial. Para que el HOMO y el LUMO puedan interactuar han de poseer la misma simetría. Si no ocurre esto la reacción estará prohibida por la simetría (esquema 4).



Esquema 4. Interacción de OM.

Con base a lo anterior, podemos considerar que dependiendo de las energías relativas de los orbitales en el 1,3-dipolo y el dipolarófilo, la interacción más fuerte puede darse por interacción entre el HOMO del dipolo y el LUMO del dipolarófilo o viceversa.

(34) a) John J. Vollmer, Kenneth L. Servis. Woodward-Hoffmann rules: Cycloaddition reactions. *J. Chem. Educ.*, **1970**, 47 (7), pp 491-500; b) Robert T. Patterson. An Improved Interpretation of the Woodward-Hoffmann Rules. *J. Chem. Educ.*, **1999**, 76 (7), pp 1002-1007.

(35) a) Felipe A. Bulat, Eduardo Chamorro, Patricio Fuentealba, and Alejandro Toro-Labbé. Condensation of Frontier Molecular Orbital Fukui Functions. *J. Phys. Chem. A*, **2004**, 108 (2), pp 342-349; b) Kenichi Fukui, Nobuaki Koga, Hiroshi Fujimoto. Interaction frontier orbitals. *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, 103 (1), pp 196-197.

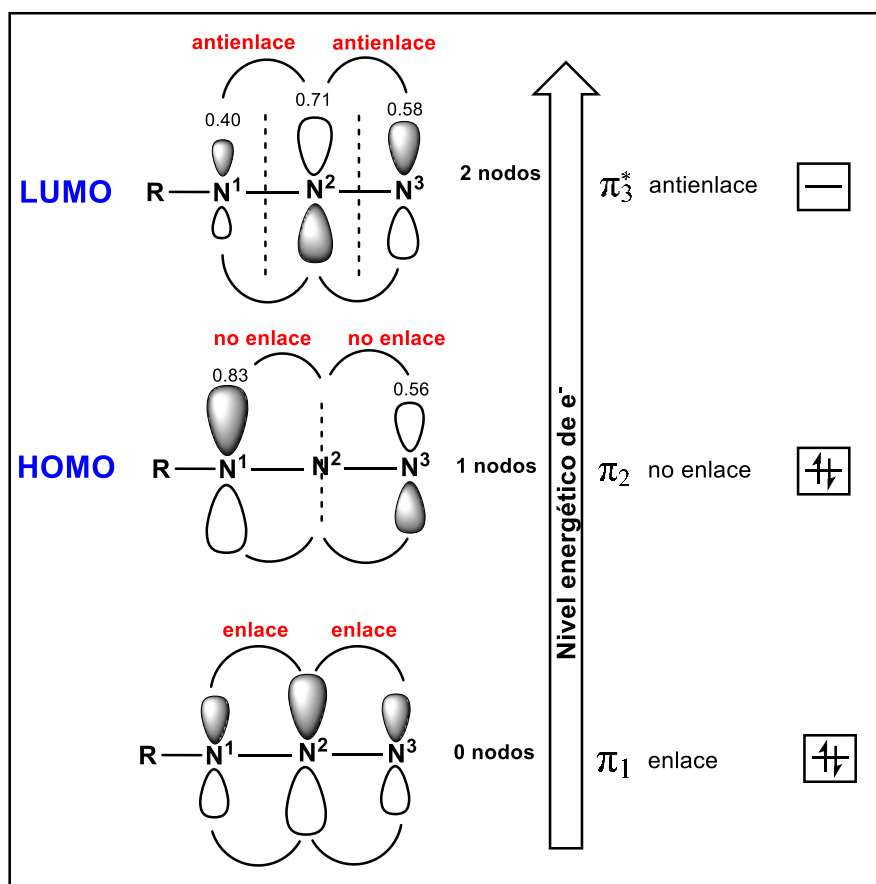
ANTECEDENTES

La diferencia con la reacción de Diels-Alder es que los dienos son nucleófilos y prefieren usar su HOMO en la cicloadición con dienófilos con sustituyentes atractores. En el caso de 1,3-dipolos se pueden comportar como nucleófilos o electrófilos y podrán usar su HOMO o su LUMO dependiendo del tipo de dipolarófilo con quien vaya a reaccionar. En general, se cumple lo siguiente:

Dipolarófilo con grupos atractores } HOMO (1,3-dipolo) - LUMO (dipolarófilo)

Dipolarófilo con grupos donadores } LUMO (1,3-dipolo) - HOMO (dipolarófilo)

Para las azidas, podemos considerar algunas generalidades de los orbitales moleculares (OM) para el grupo R-N₃ (esquema 5).



Esquema 5. OM para las alquil azidas, uno de enlace (π_1), uno de no enlace (π_2), y otro de antienlace (π_3).

Ya que el número de orbitales moleculares (OM) siempre es igual al número de los orbitales atómicos p utilizados para formar los OM, podemos construir los 3

OM de una alquil azida a partir de sus 3 orbitales atómicos p (sobre N¹, N² y N³). Estos OM tienen las siguientes características:

1. **OM π_1** : es completamente de enlace (traslape constructivo de los núcleos en fase), y corresponde al estado basal con mayor densidad electrónica.
2. **OM π_2** : tiene un nodo simétrico que coincide con el átomo N² central; este orbital, como el primero, habrán de ser orbitales llenos.
3. **OM π_3** : tiene 2 nodos y debido a que es el OM de energía más alta, es completamente de antienlace.

Las azidas al igual que otros 1,3-dipolos son reactivos capaces de usar tanto su HOMO como su LUMO que puede depender en gran manera del tipo de dipolarófilo empleado (rico o deficiente de electrones). Además, la regioselectividad de las cicloadiciones 1,3-dipolares depende de efectos electrónicos y estéricos.

b) Enolatos como compuestos dipolarófilos.

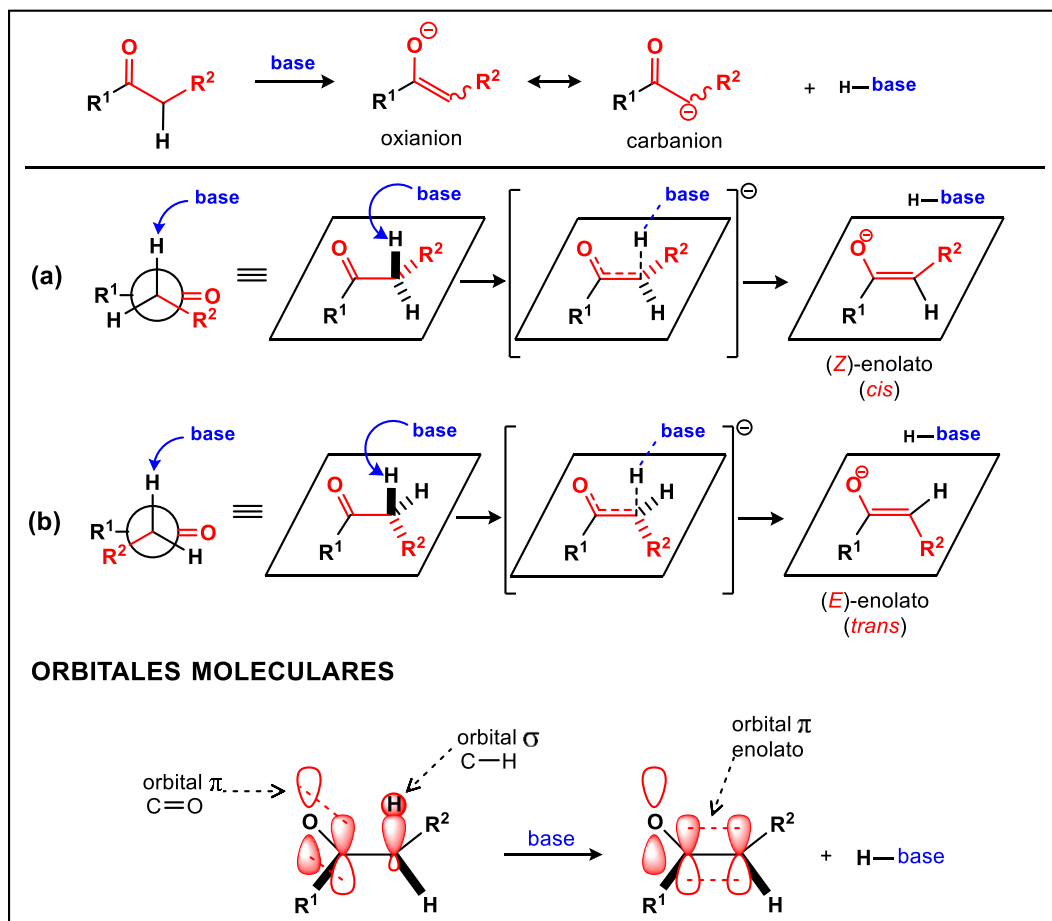
Los enolatos son las bases conjugadas de compuestos carbonílicos con hidrógenos alfa. Por lo general, el pKa de estos compuestos se encuentran entre 10 y 25, lo que implica que los enolatos son nucleofilos, muchos de ellos fuertes. Las reacciones que involucran iones enolatos de compuestos carbonílicos son mayormente de adición y condensación.

La formación de los enolatos a partir de carbonilos involucra aspectos de **selectividad** [(E) / (Z)] y de **regioselectividad** (termodinámicos / cinéticos). Para el primer caso, el control de la estereoselectividad depende de la presencia de centros estereogénicos α -CO, estéricos, estereoelectrónicos y/o geométricos sin considerar el uso de agentes quirales durante la formación de enolatos. En el esquema 11 se describe la formación de los enolatos, los cuales normalmente son formados por desprotonación. Esto es favorecido cuando el enlace C–H es perpendicular al enlace C=O permitiendo el traslape del orbital σ a un orbital π .³⁶

Dos posibles conformaciones son permitidas según el esquema 6. La primera (a) es dada como resultado en la formación del *cis*-enolato; la conformación inicial es similar al estado de transición observándose una menor interacción estérica entre R¹ y R². La segunda conformación (b) se produce cuando el enlace C–H esta perpendicular al C=O llevando al producto *trans*-enolato.

(36) P. Wyatt, S. Warren, *Organic Synthesis: Strategy and Control*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2007, pp. 43-53. ISBN: 978-0-470-48940-5

ANTECEDENTES



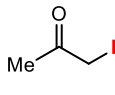
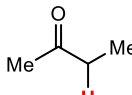
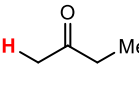

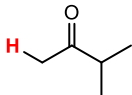
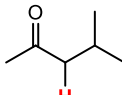
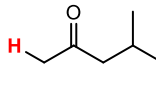
Esquema 6. Formación de enolatos a partir de la desprotonación α -C de las cetonas.

Hay numerosos estudios acerca de las velocidades de desprotonación de los compuestos de carbonilo. Estos datos definen la relación entre la acidez termodinámica y cinética de estos compuestos y también permiten comprender los mecanismos de reacción en donde los enolatos están implicados como intermedios.

El esquema 7³⁷ muestra las velocidades de deutерación de algunas alquícetonas. A partir de estos datos, el orden de reactividad hacia la desprotonación es $\text{CH}_3 > \text{RCH}_2 > \text{R}_2\text{CH}$. El impedimento estérico al acercamiento de la base es el factor principal en el establecimiento de este orden. Es decir, este proceso depende de la manera más rápida de formar al enolato (*cinético*).

(37) F. A. Carey, R. J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry. Part A: Structure and Mechanisms*, 5th ed., Springer, New York, 2007, pp. 594. e-ISBN-13: 978-0-387-44899-3

ANTECEDENTES

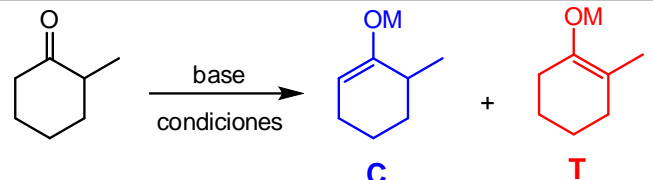
							
Velocidades relativas	100	41.5	45	<0.1	45	0.45	5.1

Esquema 7: Velocidades relativas para la deuteración de cetonas catalizadas por base (Na_2CO_3 aq.).

Por otro lado, ya que los enoles/enolatos son alquenos, los dobles enlaces más sustituidos son los más estables. Los grupos alquilo son electrodonadores y contribuyen a la densidad electrónica del enlace π , por lo tanto debido a que los hidrógenos impedidos necesitarán una mayor energía de activación deberán sufrir un *proceso termodinámico* para dar productos más estables (la vía cinética proporcionaría productos menos estables).

La formación del enolato más estable requiere un mecanismo de equilibrio entre los dos enolatos por la transferencia de protones. Una base como el hidruro de potasio es fuerte, pero pequeña, y por lo tanto no tiene dificultad de quitar el protón más impedido y se puede usar en condiciones que permitan el equilibrio enolato³⁸.

La Tabla 1 ejemplifica los conceptos antes mencionados³⁹ para el control cinético vs termodinámico en la formación de enolatos.

Tabla 1: Control cinético vs termodinámico para la formación de los enolatos.			
			
Base	Temp	C/T	Control
$\text{LiN}(i\text{-C}_3\text{H}_7)_2$	0 °C	99:1	Cinético
$\text{KN}(\text{SiMe}_3)_2$	-78 °C	95:5	Cinético
Ph_3CLi	-78 °C	90:10	Cinético
Ph_3CK	25 °C	67:33	Cinético
NaH	25 °C	26:74	Termodinámico
Ph_3CLi	25 °C	10:90	Termodinámico

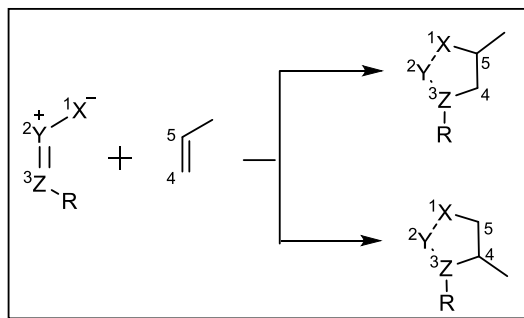
(38) (a) F. A. Carey, R. J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry. Part B: Reactions and Synthesis*. 5th ed., Springer, New York, **2007**, pp. 5-11. e-ISBN: 0-306-47380-1

(39) H.O. House, et. al. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 2324. (b) C. A. Brown, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3913. (c) G. Stork, P. F. Hudrlik, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 4464.

c) Cicloadiciones [3+2] azida-enolato.

Los compuestos 1,2,3-triazoles han despertado gran interés en la química medicinal debido a su amplia diversidad de actividades biológicas. Este núcleo heterocíclico se puede sintetizar mediante la tecnología de bioconjugación (también llamada “Química verde”), la cual ha empleado con gran éxito la metodología de cicloadición [3+2] alquino-azida catalizada por cobre, rutenio o iridio⁴⁰ gracias a las contribuciones de Mendel, Sharpless, Fokin y otros investigadores⁴¹.

Este método de síntesis se realiza a través de la cicloadición 1,3-dipolar introducida por Huisgen⁴², la cual usualmente resulta en una mezcla de los isómeros 1,4 y 1,5 como se observa en el esquema 8. Recientemente se han empleado diversos catalizadores para obtener como intermediarios β -enamino-azida o enolato-azida en la síntesis de 1,2,3-triazoles con la finalidad de mejorar la regioselectividad en la síntesis. Dependiendo del catalizador empleado, diversos compuestos carbonílicos pueden usarse para generar una enamina o un enolato (aldehídos, cetonas, β -ceto-ésteres, etc.) los cuales reaccionan como dipolarófilos con azidas.



Esquema 8. Regioisómeros de cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen.

En base a los antecedentes mencionados, se pueden resumir las características de las cicloadiciones 1,3-dipolares en los siguientes enunciados:

1. La cicloadición 1,3-dipolar azida-enolato deberá ocurrir bajo una interacción “dipolo LUMO-controlado” (LUMO_{1,3}-dipolo–HOMO dipolarófilo).
2. La reacción deberá ser OM-controlada para el enolato.
3. La interacción HOMO-LUMO es suprafacial como cualquier otro tipo de cicloadiciones 1,3-dipolar.
4. La regioselectividad depende del enolato (dipolarófilo).

(40) Dhevalapally B, Ramachary, Adluri B, Shashank, S, Karthik. An Organocatalytic Azide–Aldehyde [3+2] Cycloaddition: High-Yielding Regioselective Synthesis of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles. *Angew. Chem.* **2014**, 126, pp 10588–10592.

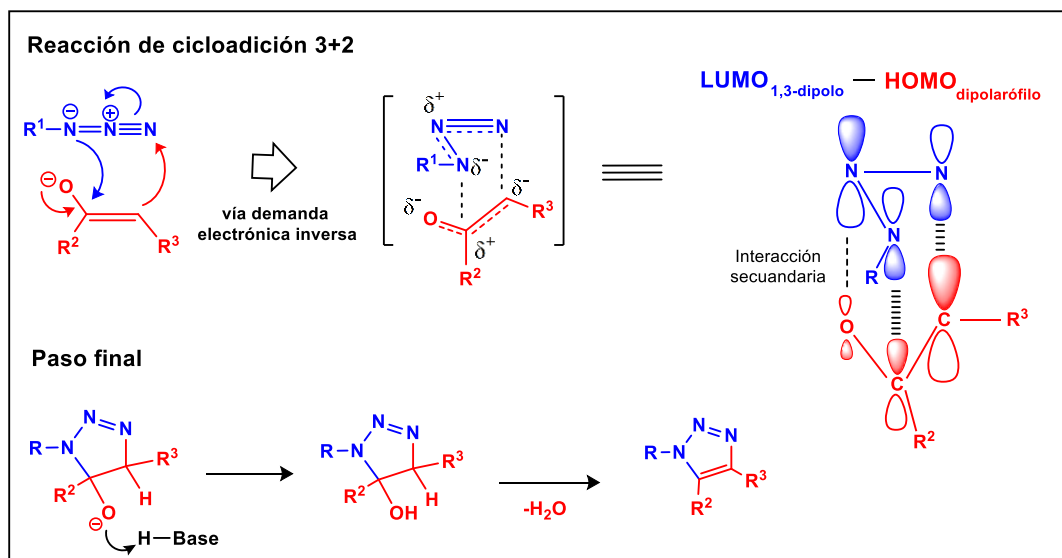
(41) Thirumurugan P, Matosiuk D, Jozwiak K. Click chemistry for drug development and diverse chemical-biology applications. *Chem. Rev.* **2013**, 113, 4905-79.

(42) Huisgen, R. In *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*; Padwa, A., Ed.; Wiley: New York, 1984; Vol. 1, 1.

ANTECEDENTES

5. Es muy probable que esta reacción ocurra por una interacción del tipo endo, debido a un posible orbital de interacción secundaria entre el orbital p del O (dipolarófilo) y el orbital p del N central (1,3-dipolo). Esta interacción aunque no conduce a un enlace, puede contribuir a disminuir la energía de la estructura de transición.

El mecanismo general para las cicloadiciones 1,3-dipolares se describe en el esquema 9.



Esquema 9. Mecanismo de cicloadición 3+2 azida-enolato.

4. Discusión de resultados

IMPORTANTE: Las publicaciones de los trabajos (**Anexos**) que aquí se reportan han involucrado una descripción sustancial y concisa de antecedentes para cada uno de los proyectos expuestos; dicha información ha sido evaluada y sugerida por réferis internacionales y por los editores de cada una de las revistas. Con la intención de **evitar la redundancia**, en esta sección se abordarán únicamente conceptos que no fueron descritos en dichos *papers*.

En el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química de la UAEMex, se llevaron a cabo pruebas de sensibilidad (*in vitro*) utilizando el método de microdilución para levaduras descrito por el CLSI con la finalidad de obtener la CMI de los compuestos sintetizados. Se emplearon cepas ATCC, cuatro de hongos filamentosos, incluyendo *Aspergillus fumigatus* ATCC-16907, *Trichosporon cutaneum* ATCC-28592, *Rhizopus Oryzae* ATCC-10329 y *Mucor hiemalis* ATCC-8690, así como seis especies de levaduras del género *Candida* (*C. albicans* ATCC-10231, *C. utilis* ATCC-9226, *C. tropicalis* ATCC-13803, *C. parapsilosis* ATCC-22019, *C. glabrata* ATCC-34138, *C. krusei* ATCC-14243). Como antimicótico de referencia se empleó al itraconazol.

En base a la importancia que se ha generado alrededor de la cicloadición 1,3-dipolar descrita por Huisgen y la versatilidad de la reacción, se llevó a cabo el estudio de 1,2,3-triazoles a través de cicloadiciones 1,3-dipolares de Dimroth azida-enolato, descrita en 1902, pero poco explorada hasta ahora.

En el Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Química de la UAEMex se llevó a cabo la síntesis de 22 nuevas oxazolin-2-onas ligadas a 1,2,3-

DESARROLLO EXPERIMENTAL

triazoles 1,4,5-trisustituídos, como se muestra en la figura 9. De dichos compuestos, 11 fueron reportados en el artículo “Synthesis and antifungal activity of novel oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives”, *Med. Chem. Commun.* (**Anexo 3**). Con la finalidad de ampliar la biblioteca de compuestos obtenidos, se sintetizaron 11 compuestos adicionales en los cuales se modificaron los sustituyentes del anillo de oxazolin-2-ona (por grupos –Me), lo cual conforma la parte “b” del **Proyecto 1**.

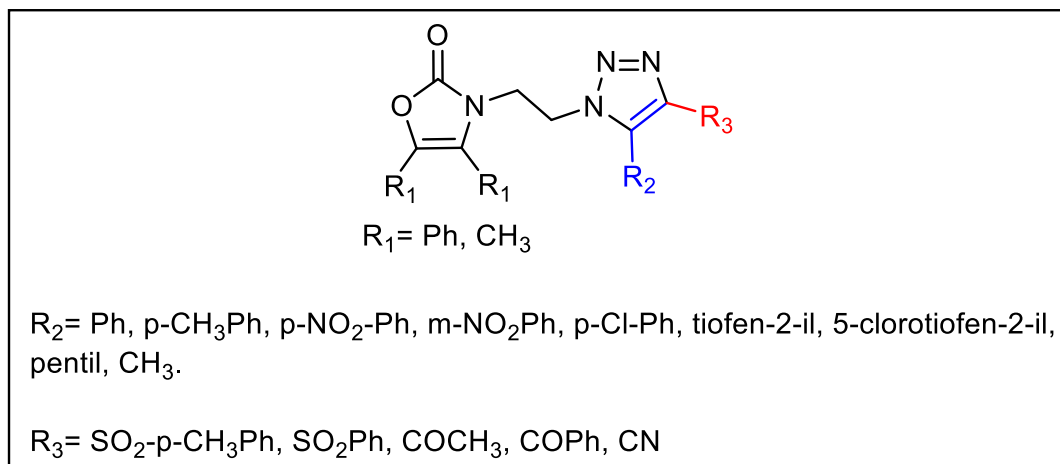


Figura 9. Estructura general de compuestos obtenidos.

De acuerdo con los puntos de corte según el CLSI (intervalos sensible, resistente y sensible dependiendo de la dosis <azoles>), la tabla 2 muestra la determinación de sensibilidad de las cepas de *Candida* evaluadas.

Tabla 2. Sensibilidad antifúngicas de 1,2,3-triazoles y compuestos dicarbonílicos.

		<i>C. alb</i>	<i>C. trop</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>
Triazoles de fenilo	Itraconazol	S	S	SDD	SDD	R	S
	8a	R	R	R	SDD	R	R
	8b	R	R	R	R	R	SDD
	8c	R	R	R	SDD	R	R
	8d	R	R	R	R	SDD	SDD
	8e	R	R	R	R	R	R
	8f	R	R	R	R	R	R
	8g	R	R	R	R	R	R
	8h	R	R	R	R	SDD	R
	8i	R	R	R	R	R	R
	8j	R	R	R	R	R	R
	8k	R	R	R	SDD	S	R
	8l	R	R	R	SDD	R	R
	8m	S	R	R	R	R	SDD
8n	S	R	R	SDD	R	R	

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Triazoles de metilo	8ñ	R	R	R	R	SDD	SDD
	8o	R	R	R	R	R	R
	8p	R	R	R	R	R	R
	8q	R	R	R	R	R	R
	8r	R	R	R	R	SDD	R
	8s	R	R	R	R	R	R
	8t	R	R	R	R	R	R
	8u	R	R	R	SDD	S	R
Compuestos 1,3-dicarbonílicos (sulfonas)	3a	R	R	R	SDD	R	R
	3b	SDD	R	R	R	R	R
	3c	R	R	R	R	R	R
	3d	R	R	R	R	R	R
	3e	R	R	R	R	R	R
	3f	R	R	R	R	R	R
	3g	R	R	R	R	R	R
	3h	R	R	R	R	R	R

Los resultados de las pruebas de sensibilidad antifúngica realizadas en hongos filamentosos se muestran en las tablas 3 y 4.

Tabla 3. Pruebas antifúngicas en cepas de hongos filamentosos [MIC ($\mu\text{g/mL}$)].

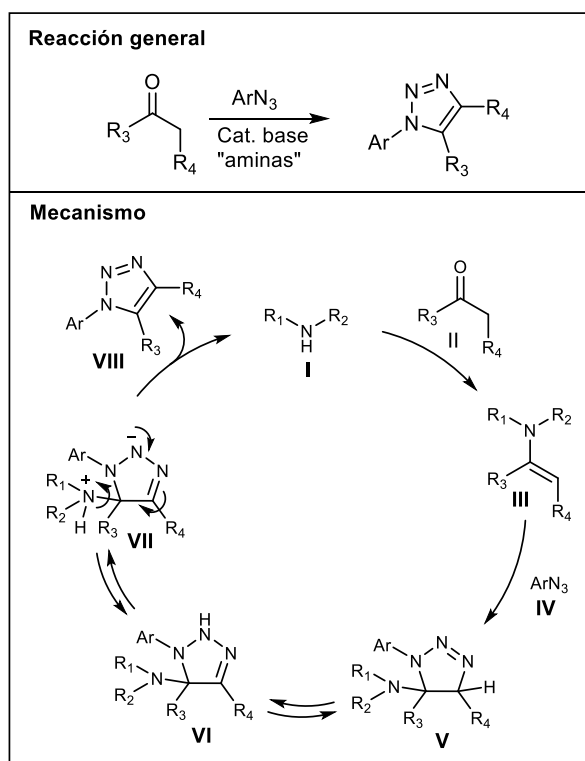
Triazoles de fenilo	<i>M. hie</i>	<i>A. fum</i>	<i>T. cut</i>	<i>R. ory</i>	Triazoles de metilo	<i>M. hie</i>	<i>A. fum</i>	<i>T. cut</i>	<i>R. ory</i>
8a	4	2	8	16	8l	4	4	8	8
8b	16	8	8	16	8m	16	16	8	16
8c	16	2	8	16	8n	16	4	8	16
8d	16	16	2	16	8ñ	16	16	2	16
8e	16	4	8	16	8o	16	8	8	16
8f	16	8	8	16	8p	16	8	8	16
8g	16	16	8	16	8q	16	16	8	16
8h	16	16	8	16	8r	16	16	8	16
8i	16	16	8	8	8s	16	16	8	8
8j	16	16	8	16	8t	16	16	8	16
8k	2	16	8	16	8u	2	16	8	16
Itraconazol	4	1	8	1					

Tabla 4. Pruebas antifúngicas de sulfonas en hongos filamentosos [MIC ($\mu\text{g/mL}$)].

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Compuestos 1,3- dicarbonílicos	<i>M. hie</i>	<i>A. fum</i>	<i>T. cut</i>	<i>R. ory</i>
3a	8	8	16	16
3b	16	16	16	16
3c	16	16	16	16
3d	16	16	4	16
3e	16	8	16	16
3f	16	16	16	16
3g	16	16	16	16
3h	16	16	16	16

El mecanismo de la cicloadición azida-enolato [3+2] se muestra en el esquema 10.



Esquema 10. Mecanismo de cicloadición azida-enolato [3+2].

Para esta reacción de cicloadición se emplearon las sulfonas **7 a-g**, así como la sulfona **7h** (1-fenilsulfonyl heptan-2-ona), **7i** 2,4-pentanediona, **7j** 1,3-difenil-1,3-propanodiona, y el benzoilacetnitrilo **7k**. Figura 10.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

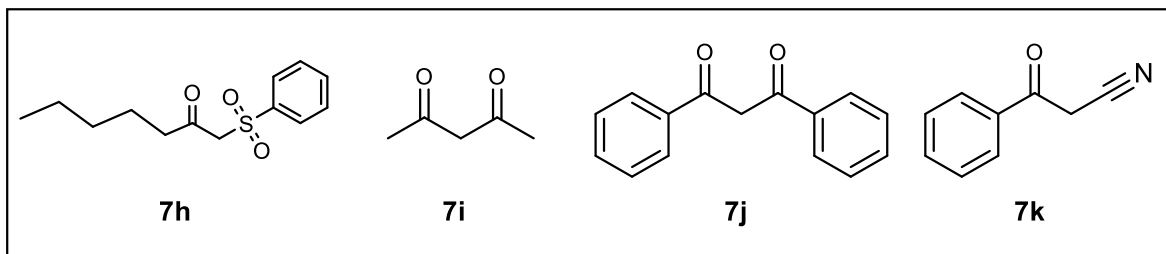


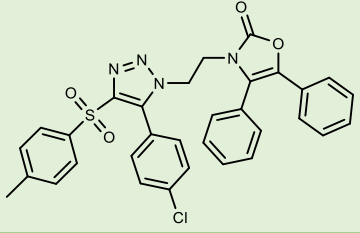
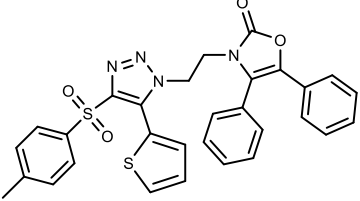
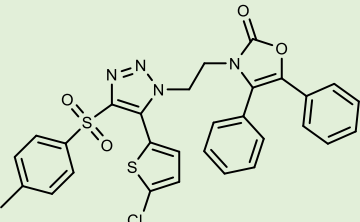
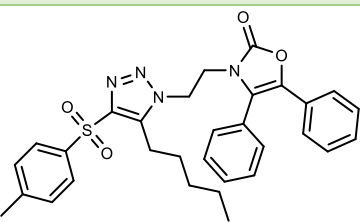
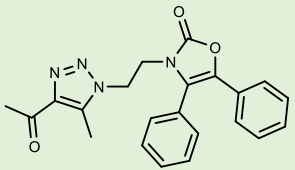
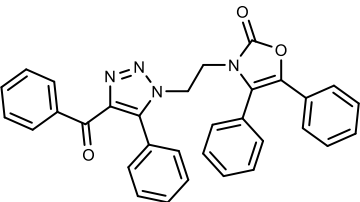
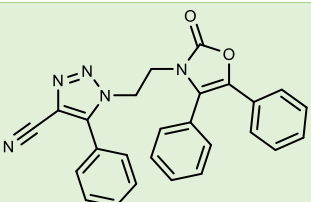
Figura 10. Compuestos dicarbonílicos usados para las cicloadiciones [3+2].

Los compuestos finales obtenidos conformaron una librería de 22 compuestos triazólicos, los cuales se enlistan en la tabla 5.

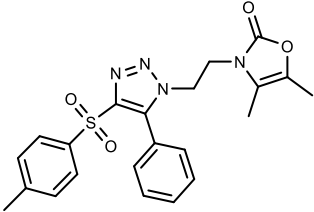
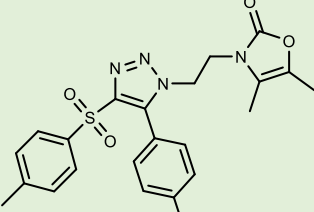
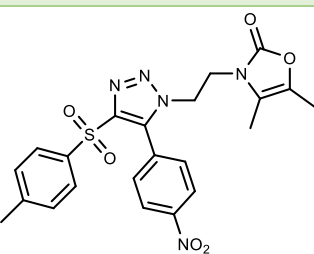
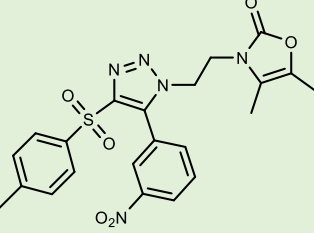
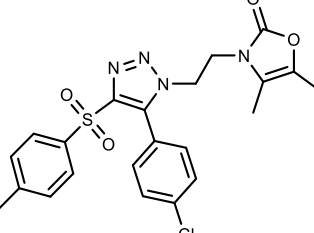
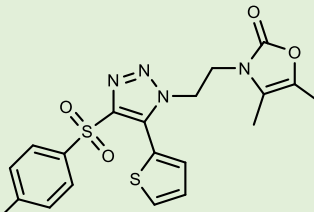
Tabla 5. Compuestos finales.

Compuesto	Estructura	Rendimiento
<i>8a</i>		68%
<i>8b</i>		61%
<i>8c</i>		74%
<i>8d</i>		70%

DESARROLLO EXPERIMENTAL

<i>8e</i>		72%
<i>8f</i>		68%
<i>8g</i>		64%
<i>8h</i>		71%
<i>8i</i>		73%
<i>8j</i>		71%
<i>8k</i>		67%

DESARROLLO EXPERIMENTAL

<i>8l</i>		64%
<i>8m</i>		57%
<i>8n</i>		70%
<i>8ñ</i>		65%
<i>8o</i>		67%
<i>8p</i>		58%

DESARROLLO EXPERIMENTAL

8q		62%
8r		59%
8s		66%
8t		67%
8u		64%

Debido a gran versatilidad que presenta la metodología realizada, como manera adicional se sintetizaron compuestos 1,2,3-triazoles derivados de tienopiridinas (figura 11) con la finalidad de conocer el comportamiento de este tipo de compuestos heterocíclicos frente a hongos de tipo levaduriformes y filamentosos de importancia clínica (**Proyecto 2**). Dichos resultados se incluyen en el artículo enviado (**Anexo 4**):

- *“Evaluation of the antifungal sensitivity of novel thienopyridine and imidazol linked- 1,2,3- triazole derivatives”.*

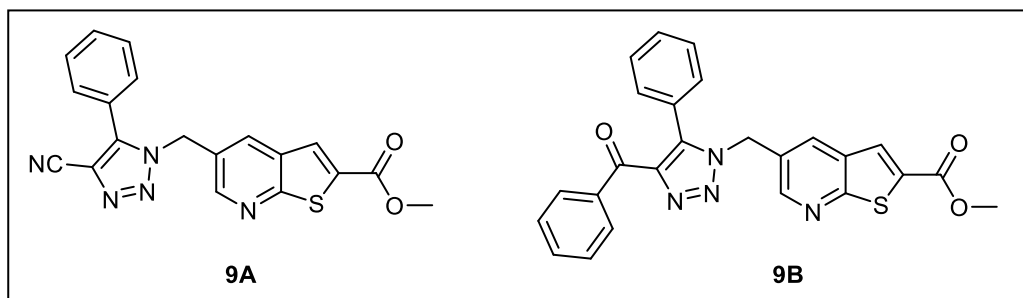


Figura 11. Tienopiridinas sintetizadas (parte del proyecto 2)

Con base a los resultados anteriores, podemos concluir lo siguiente:

1. Las cepas de levaduras más sensibles a las oxazolin-2-onas unidas al núcleo de 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisustituídos (en general) son *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata* y *C. parapsilopsis*.
2. Los compuestos triazoles sintetizados con sustituyentes metilo en las posiciones 4 y 5 mostraron tener mayor actividad que sus respectivos análogos de fenilo, lo cual nos indica la importancia de mantener grupos sustituyentes pequeños en el anillo del triazol.
3. La actividad antifúngica de las sulfonas es mucho menor que la de los compuestos finales, aunque si presentan actividad. Esto nos indica que el grupo sulfona sirve como coadyuvante para incrementar la actividad antifúngica de los compuestos.
4. Los compuestos **8m** y **8n** muestran los valores de MIC más bajos en *Candida albicans*, por lo tanto son los de mayor actividad, siendo “Sensibles” al igual que el itraconazol. Estos compuestos tienen como sustituyentes grupos sulfonas, *p*-CH₃Ph y *p*-NO₂Ph en el anillo del triazol.
5. *Candida glabrata* es sensible al compuesto **8k**, que tiene como sustituyentes nitrilo y fenilo en las posiciones 4 y 5 respectivamente, además carece del grupo sulfona.
6. Las pruebas antifúngicas en hongos filamentosos muestran que *Trichosporon cutaneum* es sensible a **8d** y **8ñ**, siendo mejor que el fármaco de referencia (2 y 8 µg/mL respectivamente). Dichos compuestos tienen como sustituyentes *m*-NO₂Ph y SO₂-*p*-CH₃Ph en ambos compuestos.
7. *Mucor hiemalis* tiene buena actividad en **8k** y **8u**, siendo mejor que el fármaco de referencia (2 y 4 µg/mL respectivamente). Dichos compuestos tienen como sustituyentes -Ph y -CN.

5. Desarrollo experimental

El desarrollo experimental (Generalidades, Metodología General y Metodologías particulares), la caracterización de cada uno de los compuestos (^1H - ^{13}C -RMN, espectrometría de masas de alta resolución –HRMS–, puntos de fusión, R_f y aspectos físicos –sólido/líquido/color–) y rendimientos de reacción han sido descritos para cada uno de los compuestos en los trabajos publicados (**Anexos**) y pueden ser consultados en el artículo principal y/o en su material de suplementario, **por lo que se prescinde de todo ello en este apartado.**

6. Conclusiones

Se realizó de manera eficiente la síntesis de 22 compuestos 1,2,3-triazoles derivados de oxazolin-2-onas y tienopiridinas a través de cicloadiciones (3+2) azida-enolato a partir del acoplamiento de alquil azidas y β -cetofosfonatos.

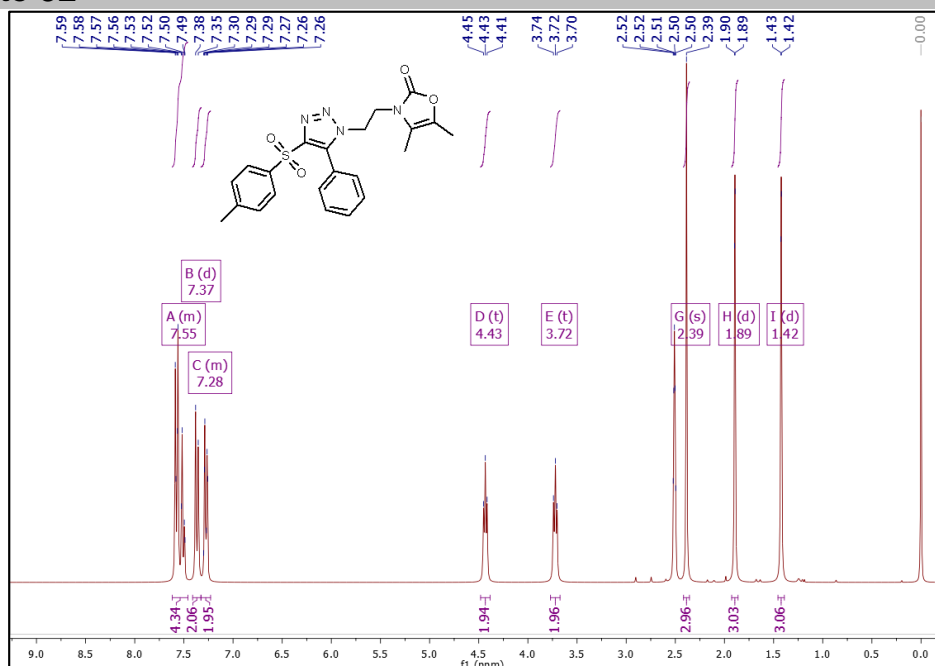
La versatilidad de la reacción de cicloadición permitió demostrar la obtención de los compuestos triazólicos en diversas materias primas, además, las pruebas antifúngicas demostraron la actividad biológica de dichos compuestos.

Se realizaron las pruebas de sensibilidad antifúngica siguiendo el método de microdilución en caldo descrito por el CLSI (M-27-A3 para hongos levaduriformes y M-38-A para hongos filamentosos) en cepas ATCC.

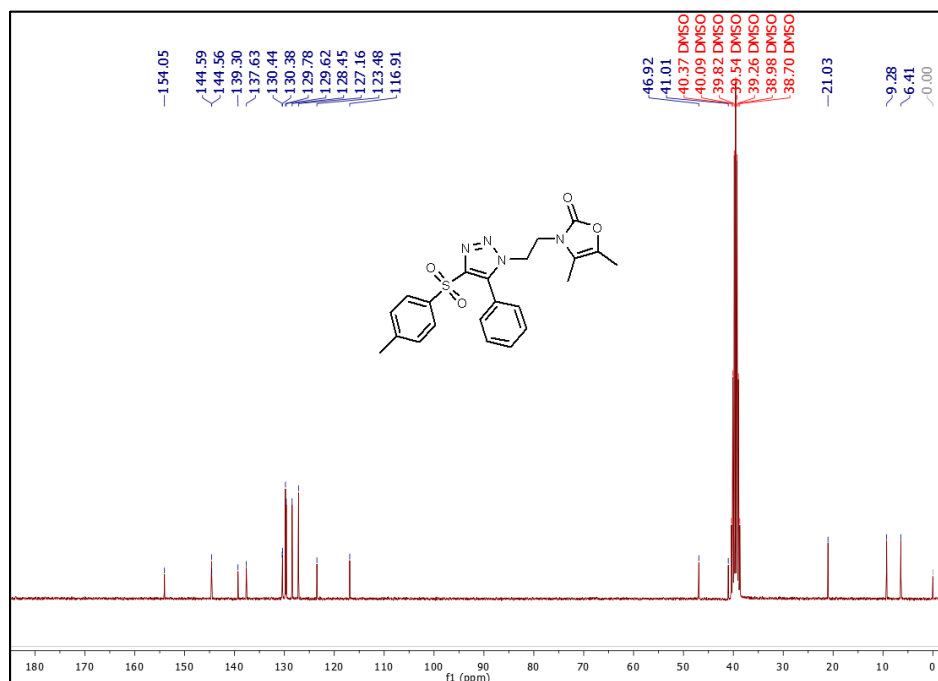
Los resultados obtenidos de la sensibilidad antifúngica por los 22 triazoles derivados de oxazolin-2-onas, 7 sulfonas sintetizadas y triazoles derivados de tienopiridinas, muestran valores de CMI aceptados como válidos dentro de los rangos establecidos por el CLSI.

Anexo 1. Caracterización de compuestos del proyecto 1b.

Compuesto 8L

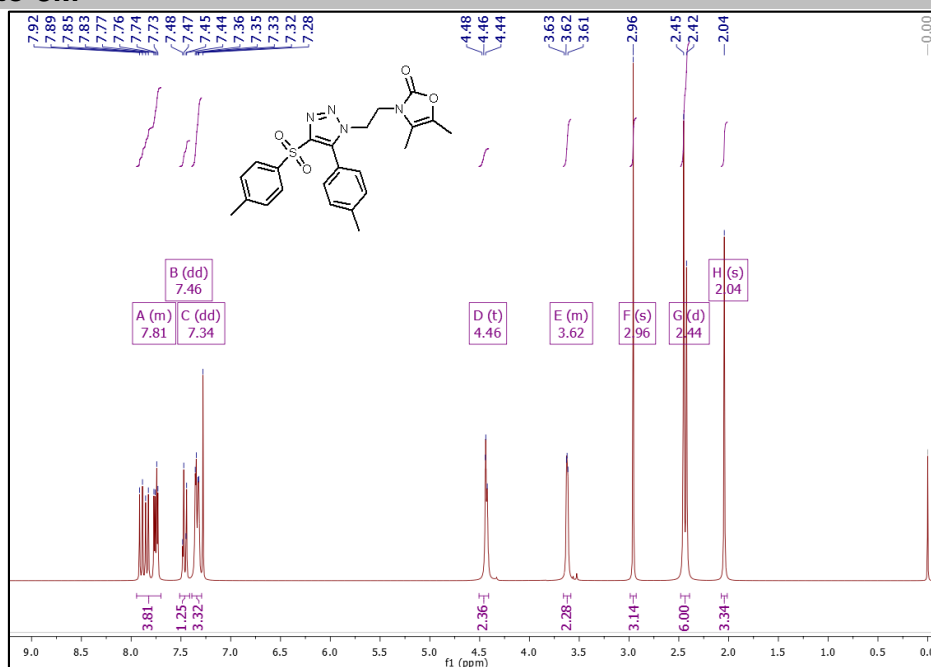


^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 7.62 – 7.46 (m, 4H), 7.37 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.33 – 7.23 (m, 2H), 4.43 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.72 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 2.39 (s, 3H), 1.89 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H), 1.42 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H) ppm.

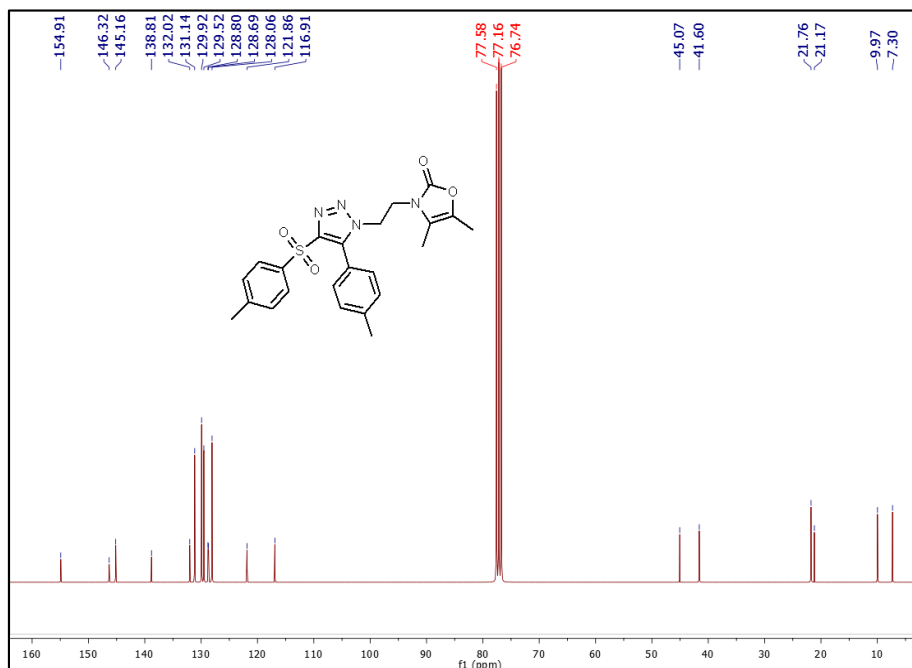


^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 154.05, 144.59, 144.56, 139.30, 137.63, 130.44, 130.38, 129.78, 129.62, 128.45, 127.16, 123.48, 116.91, 46.92, 41.01, 40.37, 40.09, 39.82, 39.54, 39.26, 38.98, 38.70, 21.03, 9.28, 6.41 ppm.

Compuesto 8M

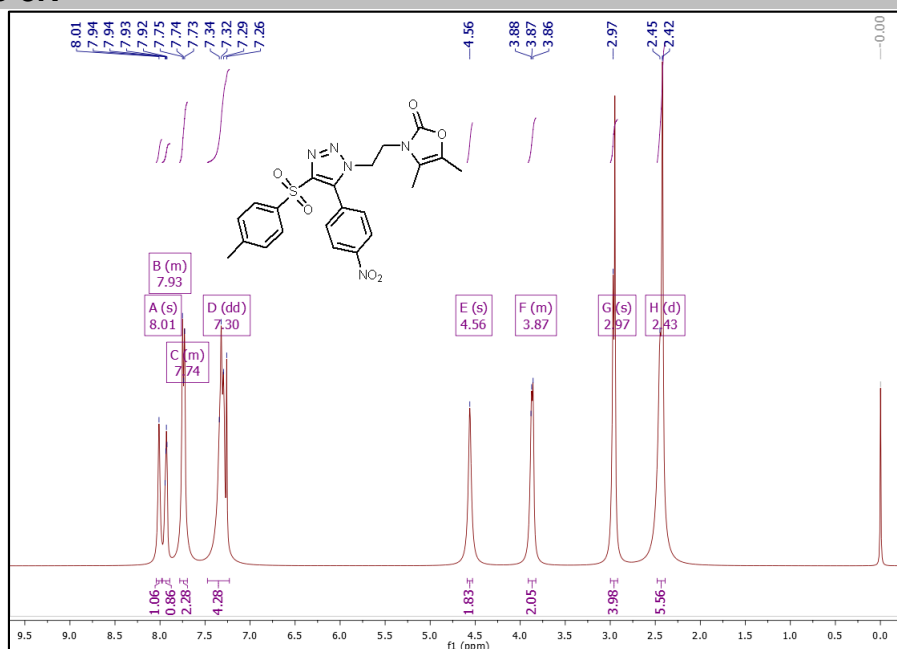


^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.95 – 7.70 (m, 4H), 7.46 (dd, $J = 9.4, 2.6$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J = 8.0, 3.0$ Hz, 3H), 4.46 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.66 – 3.58 (m, 2H), 2.96 (s, 3H), 2.44 (d, $J = 8.7$ Hz, 6H), 2.04 (s, 3H) ppm.

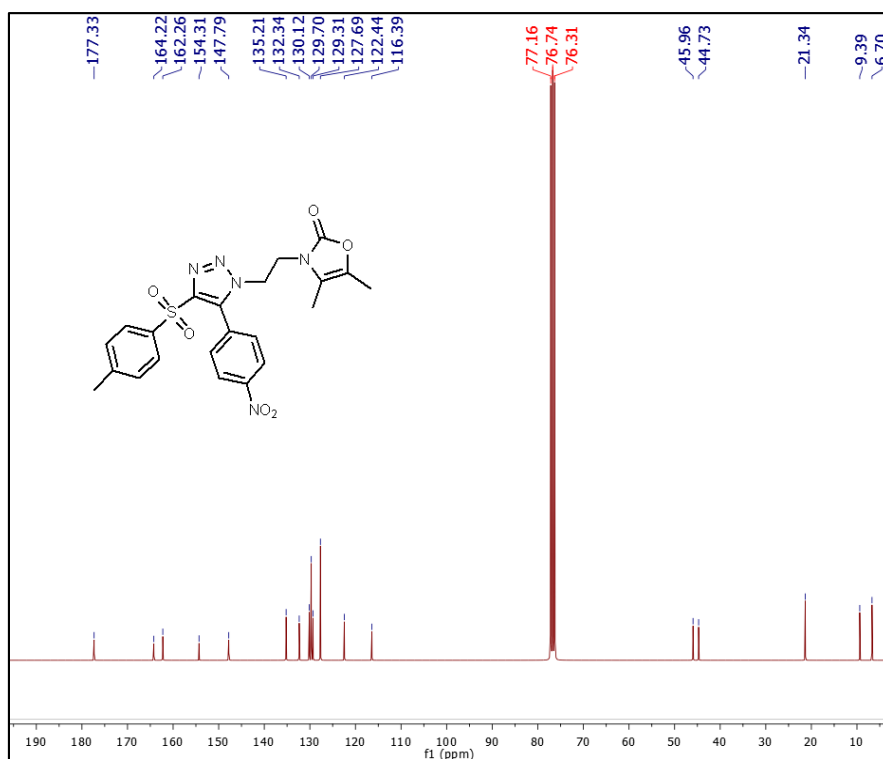


^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 154.91, 146.32, 145.16, 138.81, 132.02, 131.14, 129.92, 129.52, 128.80, 128.69, 128.06, 121.86, 116.91, 77.58, 77.16, 76.74, 45.07, 41.60, 21.76, 21.17, 9.97, 7.30 ppm.

Compuesto 8N

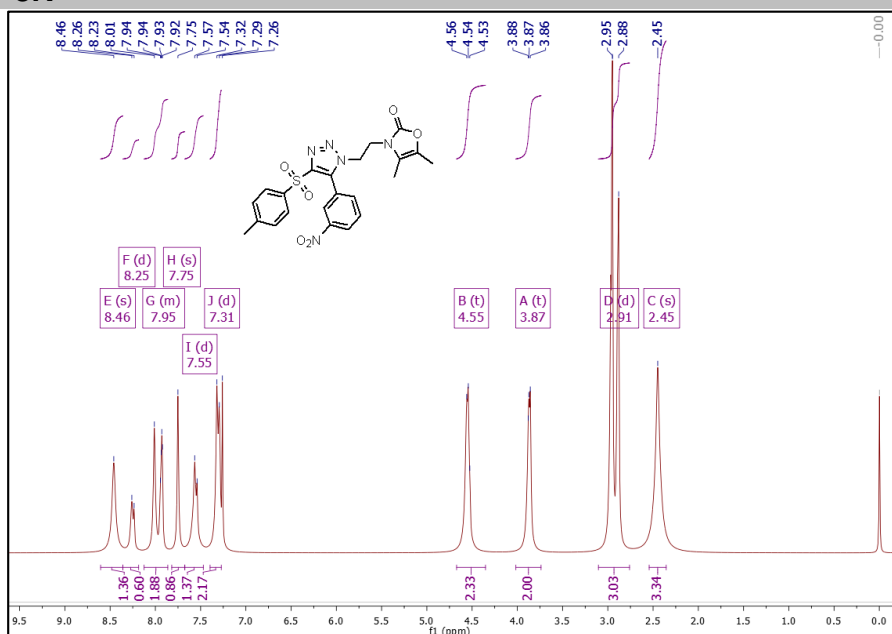


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.01 (s, 1H), 7.97 – 7.89 (m, 1H), 7.78 – 7.70 (m, 2H), 7.30 (dd, *J* = 16.4, 8.3 Hz, 4H), 4.56 (s, 2H), 3.91 – 3.83 (m, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.43 (d, *J* = 8.5 Hz, 6H) ppm.

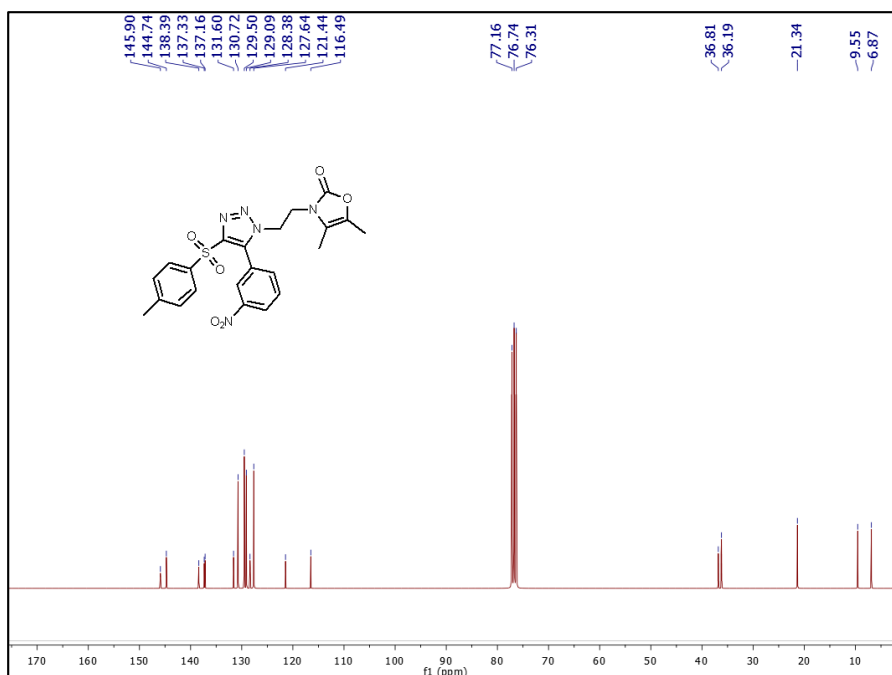


¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 177.33, 164.22, 162.26, 154.31, 147.79, 135.21, 132.34, 130.12, 129.70, 129.31, 127.69, 122.44, 116.39, 77.16, 76.74, 76.31, 45.96, 44.73, 21.34, 9.39, 6.70, ppm.

Compuesto 8N

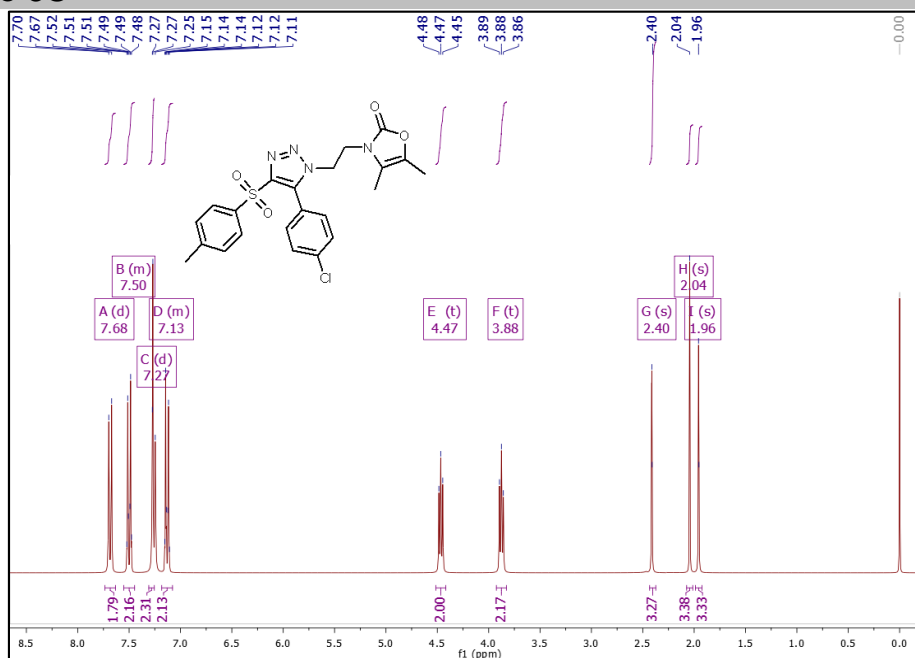


^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.46 (s, 1H), 8.25 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.12 – 7.86 (m, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.55 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 4.55 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.87 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.88 (s, 3H), 2.45 (s, 3H) ppm.

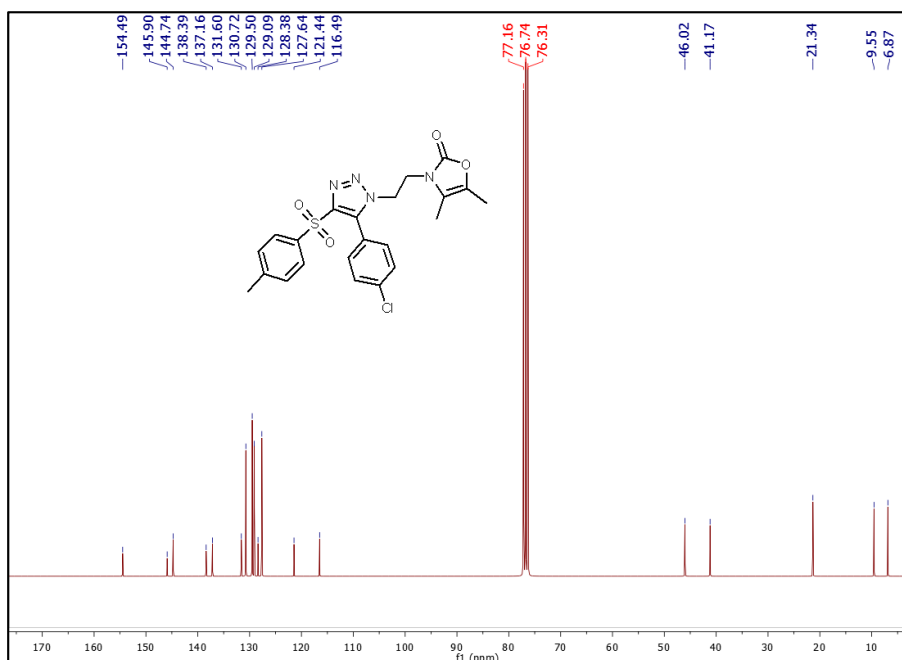


^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 145.90, 144.74, 138.39, 137.33, 137.16, 131.60, 130.72, 129.50, 129.09, 128.38, 127.64, 121.44, 116.49, 36.81, 36.19, 21.34, 9.55, 6.87 ppm

Compuesto 80

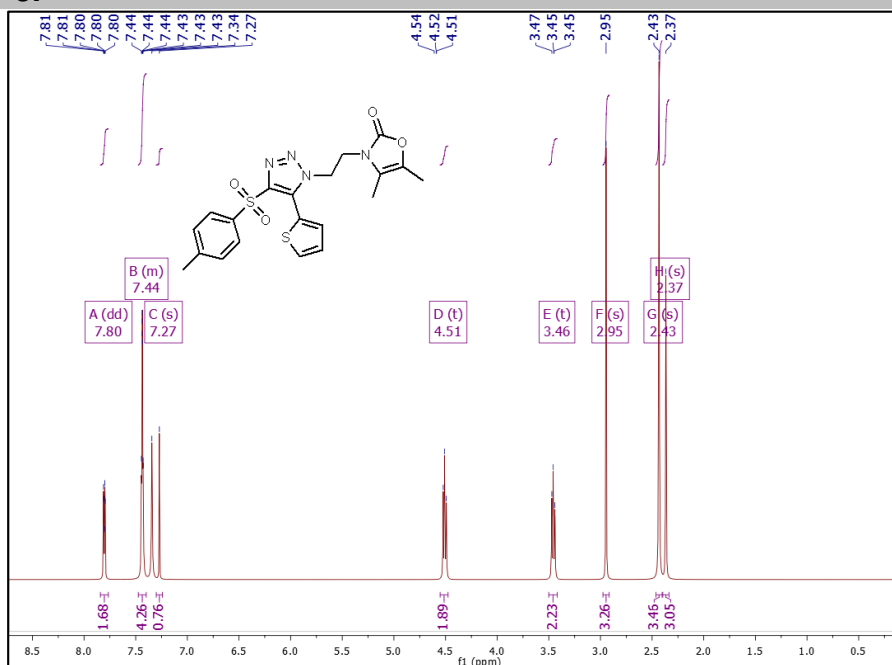


^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.68 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.55 – 7.45 (m, 2H), 7.27 (d, $J = 1.5$ Hz, 2H), 7.18 – 7.08 (m, 2H), 4.51 – 4.42 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.88 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.96 (s, 3H) ppm.

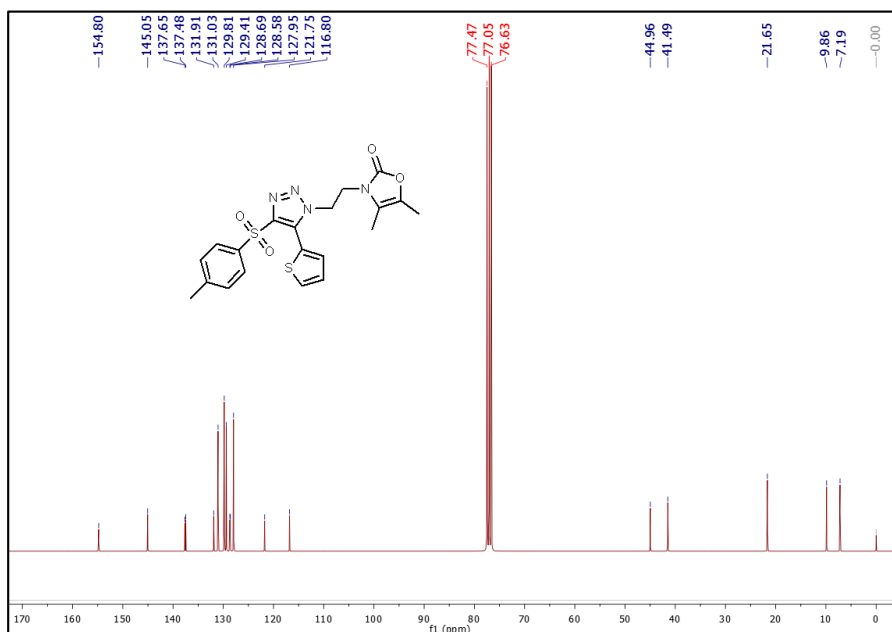


^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 154.49, 145.90, 144.74, 138.39, 137.16, 131.60, 130.72, 129.50, 129.09, 128.38, 127.64, 121.44, 116.49, 46.02, 41.17, 21.34, 9.55, 6.87 ppm.

Compuesto 8P

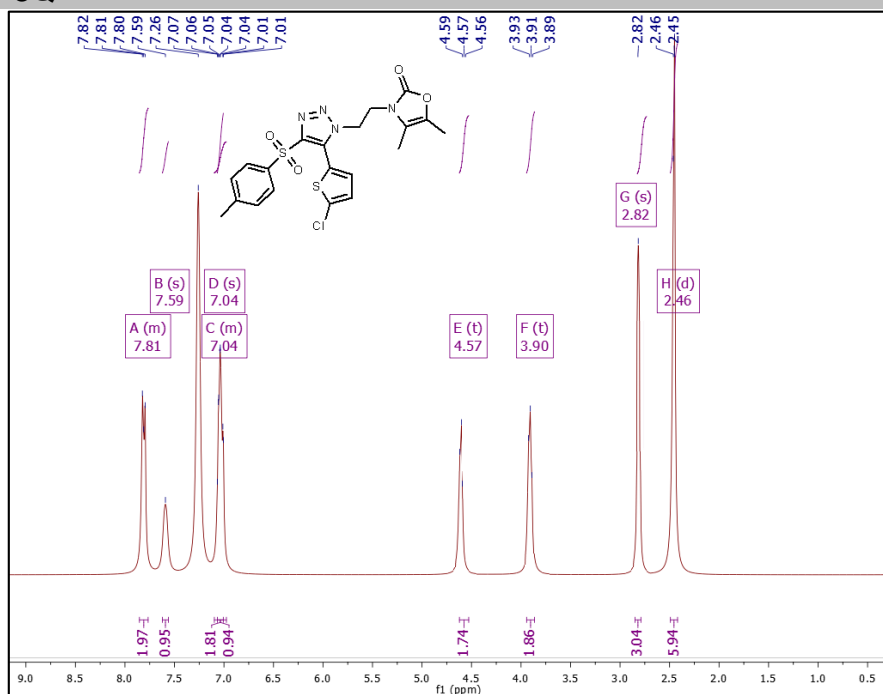


^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.80 (dd, $J = 3.9, 1.1$ Hz, 2H), 7.47 – 7.40 (m, 4H), 7.27 (s, 1H), 4.51 (t, $J = 5.0$ Hz, 2H), 3.46 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.37 (s, 3H) ppm.

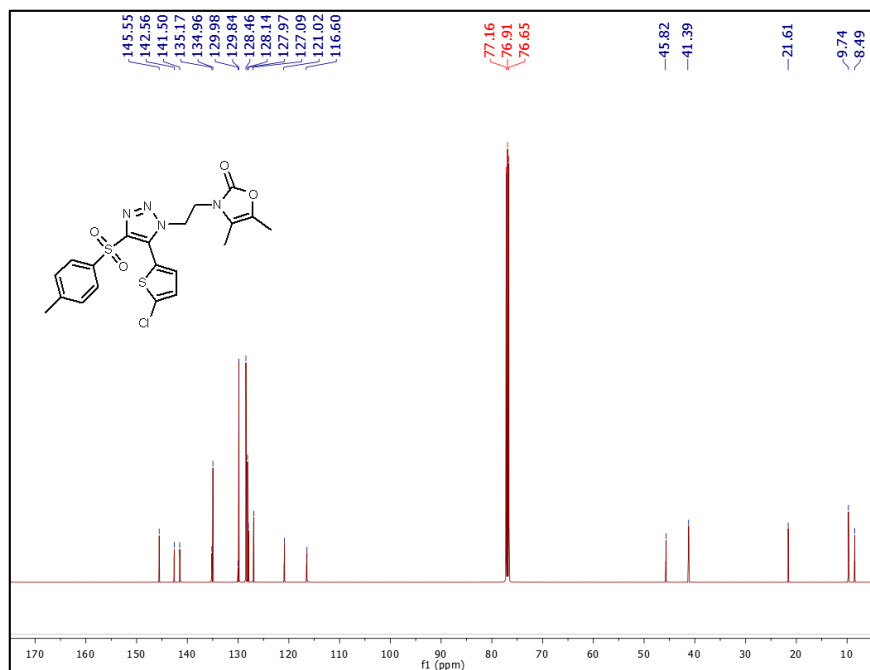


^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 154.80, 145.05, 137.65, 137.48, 131.91, 131.03, 129.81, 129.41, 128.69, 128.58, 127.95, 121.75, 116.80, 44.96, 41.49, 21.65, 9.86, 7.19 ppm.

Compuesto 8Q

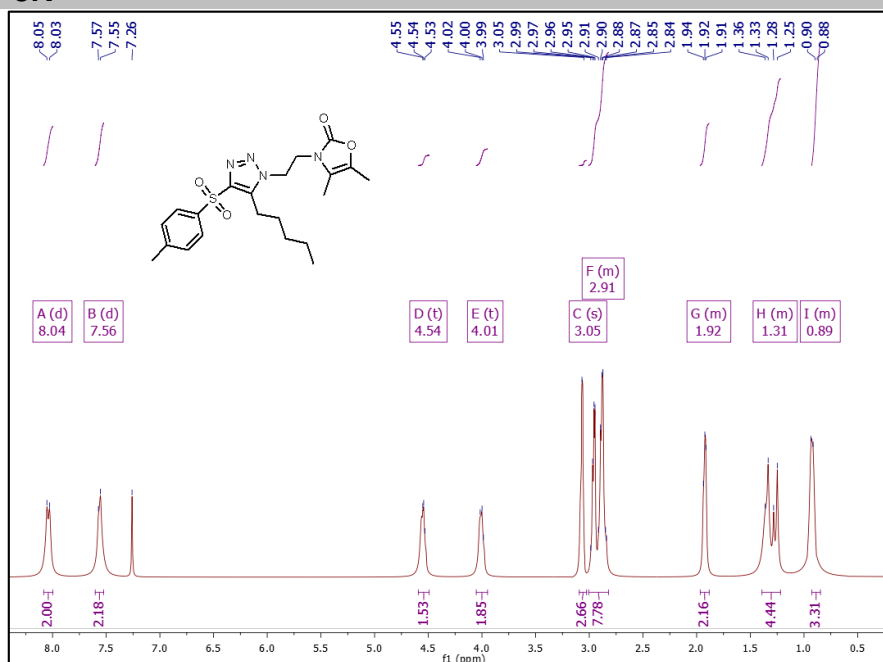


^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.85 – 7.77 (m, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.10 – 6.98 (m, 1H), 7.04 (s, 2H), 4.57 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 3.90 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 2.82 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.45 (s, 3H) ppm.

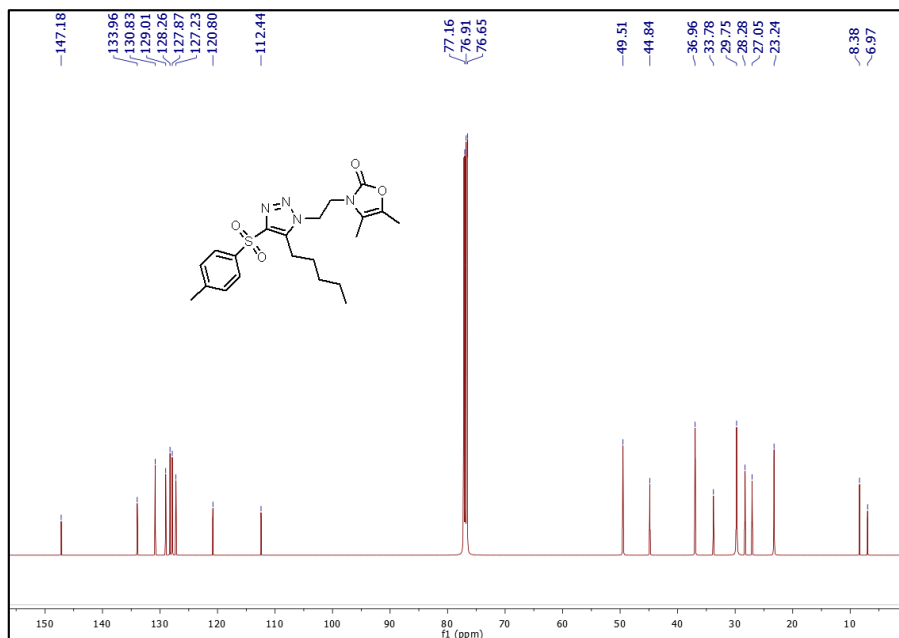


^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 145.55, 142.56, 141.50, 135.17, 134.96, 129.98, 129.84, 128.46, 128.14, 127.97, 127.09, 121.02, 116.60, 45.82, 41.39, 21.61, 9.74, 8.49 ppm.

Compuesto 8R



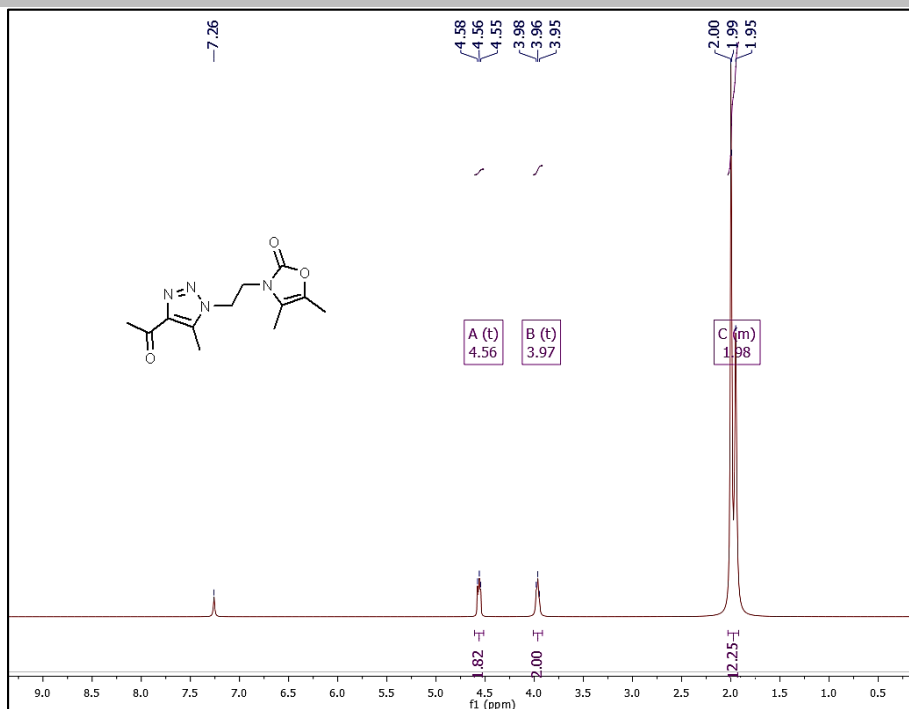
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.56 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 4.54 (t, J = 3.4 Hz, 2H), 4.01 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 3.05 (s, 3H), 3.01 – 2.82 (m, 8H), 1.92 (m, 2H), 1.39 – 1.22 (m, 4H), 0.93 – 0.85 (m, 3H) ppm.



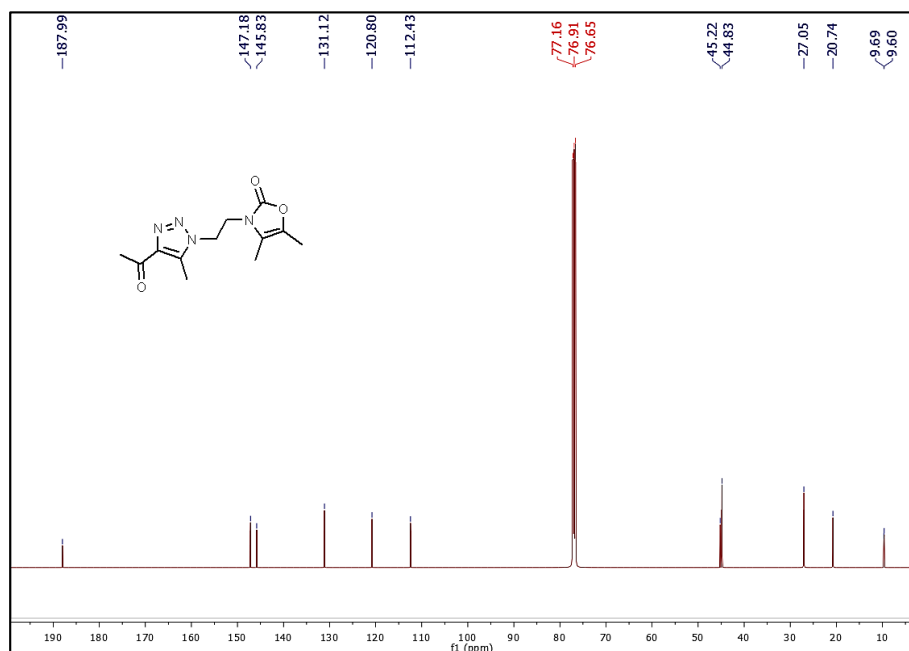
^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 147.18, 133.96, 130.83, 129.01, 128.26, 127.87, 127.23, 120.80, 112.44, 49.51, 44.84, 36.96, 33.78, 29.75, 28.28, 27.05, 23.24, 8.38, 6.97 ppm.

ANEXOS

Compuesto 8S

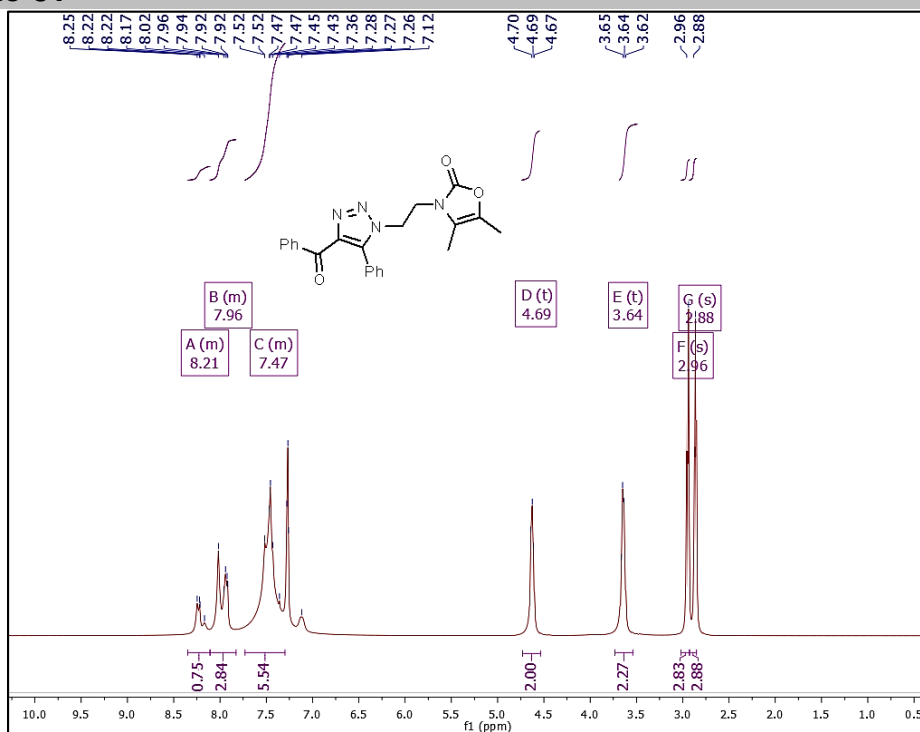


^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 4.56 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.97 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 2.03 – 1.92 (m, 12H) ppm.

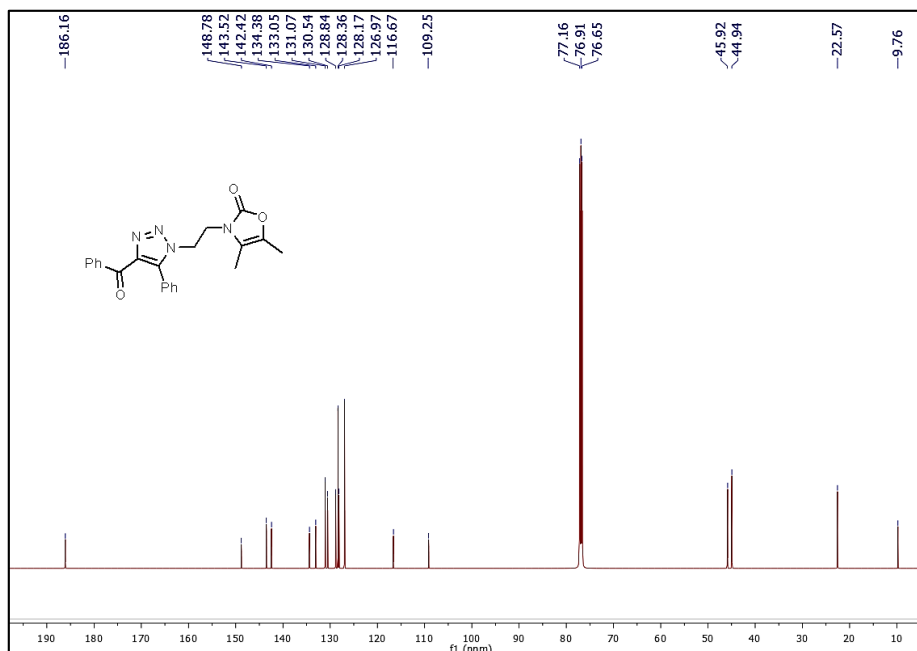


^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ = 187.99, 147.18, 145.83, 131.12, 120.80, 112.43, 45.22, 44.83, 27.05, 20.74, 9.69, 9.60 ppm.

Compuesto 8T

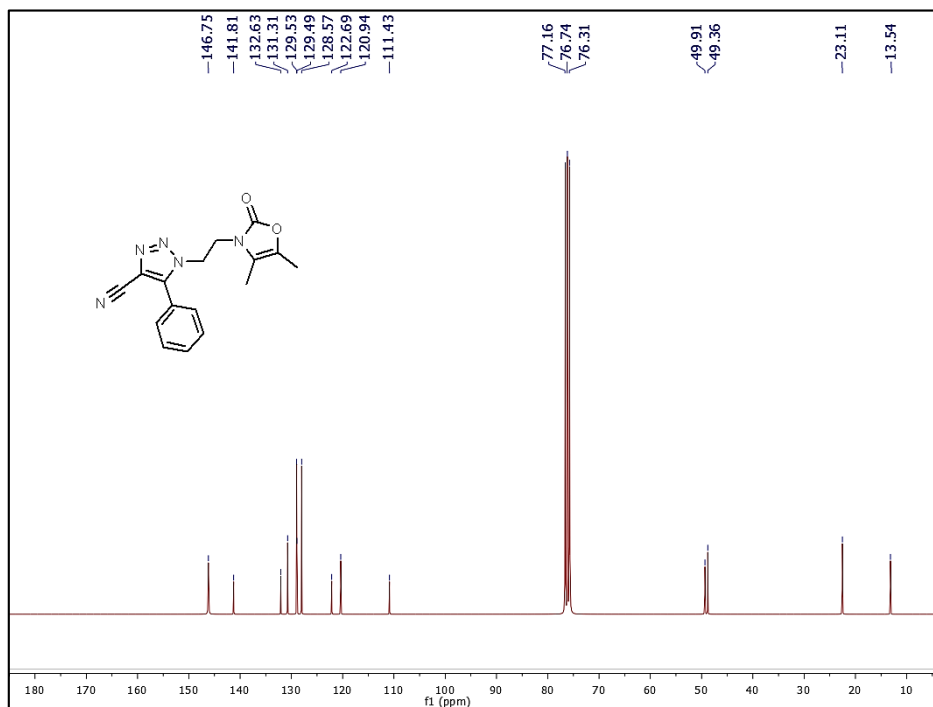
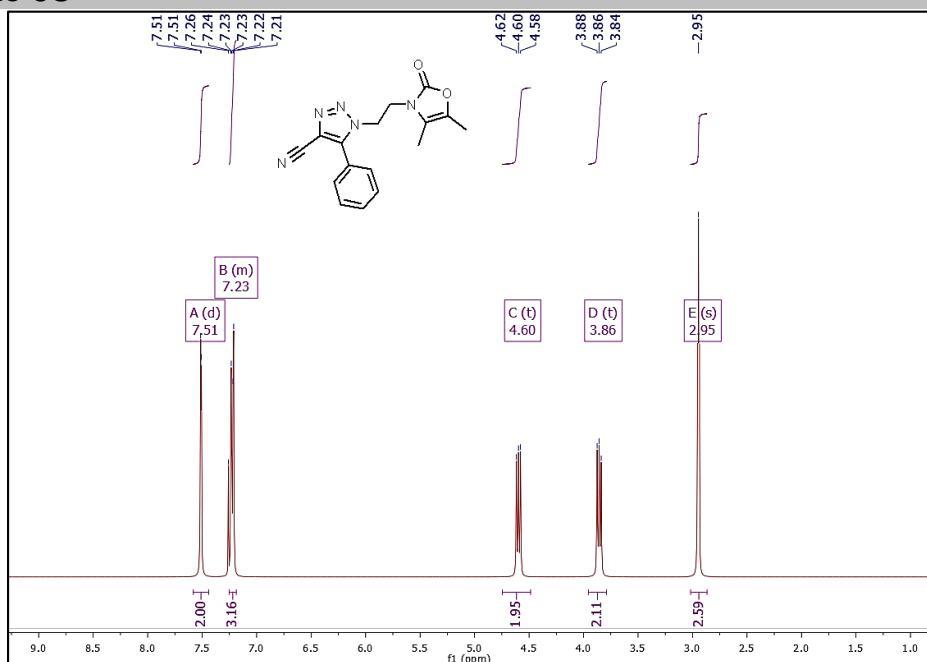


$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.35 – 8.11 (m, 1H), 8.11 – 7.83 (m, 3H), 7.73 – 7.30 (m, 6H), 4.69 (t, J = 4.2 Hz, 2H), 3.64 (t, J = 4.2 Hz, 2H), 2.96 (s, 3H), 2.88 (s, 3H) ppm.



$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ = 186.16, 148.78, 143.52, 142.42, 134.38, 133.05, 131.07, 130.54, 128.84, 128.36, 128.17, 126.97, 116.67, 109.25, 45.92, 44.94, 22.57, 9.76 ppm.

Compuesto 8U



$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ = 146.75, 141.81, 132.63, 131.31, 129.53, 129.49, 128.57, 122.69, 120.94, 111.43, 49.91, 49.36, 23.11, 13.54 ppm.

ANEXOS

Anexo 2. Resultado de pruebas de sensibilidad antifúngica.

Tabla 6. Pruebas antifúngicas de triazoles de fenilo [MIC ($\mu\text{g/mL}$)].

Triazoles de fenilo	<i>C. alb</i>	<i>C. trop</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>	<i>M. hie</i>	<i>A. fum</i>	<i>T. cut</i>	<i>R. ory</i>
8a	8	8	8	0.5	1	8	4	2	8	16
8b	1	8	4	8	2	0.25	16	8	8	16
8c	4	8	4	0.25	4	8	16	2	8	16
8d	8	8	8	8	0.12	0.5	16	16	2	16
8e	8	8	8	8	4	8	16	4	8	16
8f	8	8	8	8	1	8	16	8	8	16
8g	8	8	8	2	2	4	16	16	8	16
8h	8	8	8	8	0.25	8	16	16	8	16
8i	8	8	8	8	2	4	16	16	8	8
8j	8	8	8	8	2	8	16	16	8	16
8k	8	8	8	0.5	0.12	8	2	16	8	16
Standard	0.03	0.06	0.25	0.25	1	0.06	4	1	8	1

Tabla 7. Pruebas antifúngicas de triazoles de metilo [MIC ($\mu\text{g/mL}$)].

Triazoles de metilo	<i>C. alb</i>	<i>C. trop</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>	<i>M. hie</i>	<i>A. fum</i>	<i>T. cut</i>	<i>R. ory</i>
8l	2	8	8	0.5	1	4	8	4	8	2
8m	0.12	8	4	8	2	0.25	16	16	8	16
8n	0.12	8	4	0.25	2	4	16	8	8	16
8ñ	8	8	8	8	0.25	0.25	16	16	2	16
8º	8	8	8	8	2	8	16	16	8	16
8p	8	8	8	8	1	8	16	8	8	16
8q	8	8	8	1	1	2	16	16	8	16
8r	8	8	8	8	0.25	8	16	16	8	16
8s	8	8	8	8	2	4	16	16	8	8
8t	8	8	8	8	2	8	16	16	8	16
8u	8	8	8	0.25	0.12	8	4	16	8	8
Standard	0.03	0.06	0.25	0.25	1	0.06	4	1	8	1

ANEXOS

Tabla 8. Pruebas antifúngicas de sulfonas [MIC ($\mu\text{g/mL}$)].

Compuestos 1,3- dicarbonílicos	<i>C. alb</i>	<i>C. trop</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>	<i>M. hie</i>	<i>A. fum</i>	<i>T. cut</i>	<i>R. ory</i>
3a	4	16	8	2	16	16	8	8	16	16
3b	0.5	16	8	16	16	16	16	16	16	16
3c	2	16	16	2	16	16	16	16	16	16
3d	2	16	16	16	16	16	16	16	4	16
3e	16	16	8	16	16	16	16	8	16	16
3f	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
3g	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
3h	16	16	4	16	16	16	16	16	16	16
Standard	0.03	0.06	0.25	0.25	1	0.06	4	1	8	1

Anexo 3. Artículo publicado (Proyecto 1).



MedChemComm

RESEARCH ARTICLE

View Article Online
View Journal | View IssueCite this: *Med. Chem. Commun.*,
2017, 8, 2258Synthesis and antifungal activity of novel
oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives†Alejandra Ramírez-Villalva,^a Davir González-Calderón,^b Roxana I. Rojas-García,^a
Carlos González-Romero,^b Joaquín Tamariz-Mascarúa,^c
Macario Morales-Rodríguez,^b Nieves Zavala-Segovia^d and Aydeé Fuentes-Benites^d*^a

Novel oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives (4a–k) were synthesized by straightforward and versatile azide-enolate (3 + 2) cycloaddition. The series of compounds was screened for antifungal activity against four filamentous fungi as well as six yeast species of *Candida* spp. According to their efficiency and breadth of scope, they can be ordered as 4k > 4d > 4h > 4a, especially in relation to the activity displayed against *Candida glabrata* ATCC-34138, *Trichosporon cutaneum* ATCC-28592 and *Mucor hiemalis* ATCC-8690, i.e. compounds 4d, 4h and 4k showed excellent activity against *C. glabrata* (MIC 0.12, 0.25 and 0.12 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively), better than that of itraconazole (MIC 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$). The activity of compound 4d (MIC = 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) was higher than that observed for the standard antifungal drug (MIC = 8 $\mu\text{g mL}^{-1}$) against *Trichosporon cutaneum*, while compound 4k displayed an excellent antimycotic activity against *Mucor hiemalis* (MIC = 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ vs. 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for itraconazole). In addition, we describe herein a novel mild and eco-friendly synthetic protocol for obtaining β -ketosulfones (adducts to afford compounds 4a–k) from α -brominated carbonyls in an aqueous nanomicellar medium at room temperature.

Received 28th August 2017,
Accepted 14th October 2017

DOI: 10.1039/c7md00442g

rsc.li/medchemcomm

1. Introduction

Both oxazolidin-2-one¹ and 1,2,3-triazole² cores are very well-recognized pharmacophores in the literature. They have become extremely versatile in medicinal chemistry, featuring a number of clinically used drugs (e.g. Linezolid 1 or Tazobactam 2, Fig. 1). Consequently, several antimicrobials

based on one or the other scaffold have been reported in the literature.³ On the other hand, the study of *both cores in the same molecule* (3) as an antibacterial agent has been reported⁴ and patented (e.g. 3a (ref. 5) and 3b (ref. 6)). This year – 2017 – Melinta Therapeutics Inc. announced the acceptance of FDA of the Investigational New Drug (IND) application for topical

Radezolid 3c, a second-generation oxazolidinone/triazole compound discovered by Melinta scientists as a novel antibiotic to treat serious bacterial infections.⁷ Curiously, antifungal activity has not been demonstrated for these kinds of compounds to the best of our knowledge.

Even though the mechanism of action of oxazolidinone⁸ and triazole⁹ cores has been described, the inhibition of

monoamine oxidase A (MAO-A)^{4a} as well as the RNA-binding process^{4b} has been proposed as the mode of action for oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole.

Due to the strong resistance of fungi to current drugs, there is a continuous search for antifungal agents. As part of our ongoing research, we herein describe the synthesis and biological evaluation of novel oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives (4).

2. Chemistry

Our initial study began by obtaining the starting materials, azide/oxazolidin-2-one 8 and ketones 11 (Scheme 1). Firstly, chlorine derivative 7 was synthesized (61%) by coupling between 2-chloroethyl isocyanate 6 and benzoin 5.¹⁰ Subsequently, the nucleophilic substitution of 7 by the azide ion furnished compound 8 (58%).

Ketones 11a–11g were synthesized since, unlike 11i–11j, they are not commercially available (ketone 11h was kindly donated by Syntex-La Roche). For these purposes, we have developed a novel organic solvent-free synthesis of

^aDepartamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Colón/Paseo Tollocan s/n, Toluca, Estado de México, 50120, Mexico. E-mail: mpafuentesb@uaemex.mx;

Fax: +52 722 217 3890; Tel: +52 722 217 5109x113

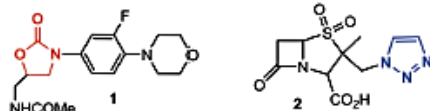
^bDepartamento de Microbiología, Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Colón/Paseo Tollocan s/n, Toluca, Estado de México, 50120, Mexico

^cDepartamento de Química Orgánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Profr. Carpio y Plan de Ayala, Ciudad de México, 11340, Mexico

^dCentro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, Carretera Toluca-Atzacamilco Km 14.5, Toluca, 52000, Mexico

† Electronic supplementary information (ESI) available: Supplementary data (experimental procedures, characterization data of all compounds and copies of ¹³C, ¹H, and spectra, as well as the study on the synthesis of β -ketosulfones). See DOI: 10.1039/c7md00442g

U.S. FDA approved antimicrobial pharmaceuticals:



Oxazolidin-2-ones linked-1,2,3-triazoles:

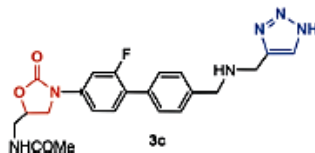
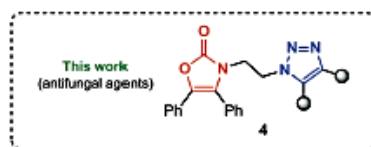
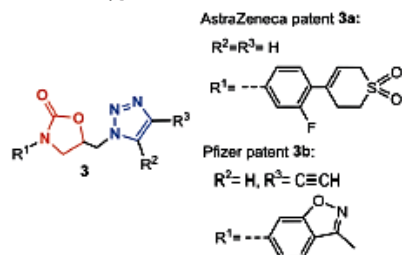


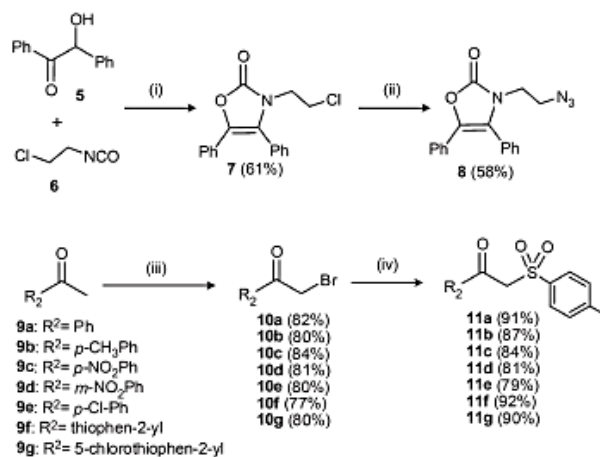
Fig. 1 The novel series of compounds **4** involves the extremely important oxazolidin-2-one and 1,2,3-triazole pharmacophoric cores. A similar feature is found in antimicrobial oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole **3**, including lead compounds **1** and **2**.

β -ketosulfones in an aqueous nanomicellar medium by the concomitant use of the surfactant reagent SPGS-550-M or 'Nok' (now available at Sigma-Aldrich¹¹) and sodium *p*-toluenesulfonate from α -bromoketones. The surfactant nature of NOK (a third generation surfactant) allows it to act as an efficient nanoreactor in catalytic amounts. The study and scope of this novel methodology are described in the ESI† in greater detail. Therefore, we decided to apply such a methodology in the synthesis of compound **11** from **10**, which in turn was accomplished by reported protocols¹² with *N*-bromosuccinimide (NBS) as the bromine source.

Although Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) is the conventional method for obtaining 1,2,3-triazole moieties,¹³ other strategies have emerged as alternatives for such a purpose. We previously reported¹⁴ a novel synthetic protocol to achieve the efficient assembly of 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazole cores through azide-enolate cycloaddition. In consequence, oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives (**4**) were synthesized by the efficient 1,3-dipolar cycloaddition of azide/enolate in the presence of enolates prepared *in situ* from ketones **11** activated by DBU as the base. Table 1 summarizes these outcomes.

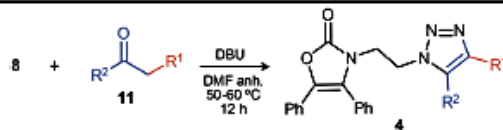
3. Microbiology

Compounds **4a-k** were tested for their *in vitro* activity against four filamentous fungi: *Aspergillus fumigatus* ATCC-16907, *Trichosporon cutaneum* ATCC-28592, *Rhizopus oryzae* ATCC-10329 and *Mucor hiemalis* ATCC-8690. These compounds were also evaluated, employing standardized microbiological methods developed by the CLSI, against six yeast specimens: *Candida albicans* ATCC-10231, *Candida utilis* ATCC-9226, *Candida tropicalis* ATCC-13803, *Candida parapsilopsis* ATCC-22019,



Scheme 1 Reagents and conditions: (i) N₃, 180 °C, 24 h. (ii) NaN₃ (1.1 eq.), DMF anhyd., 60 °C, 12 h, N₂. (iii) NBS (1.1 eq.), TsOH-H₂O (1.0 eq.), MeCN, 60 °C, 4 h. (iv) SPGS-550-M aq. (2% w/w), *p*-Tol-SO₃Na (1.5 eq.), r.t., 12 h.

Table 1 Synthesis of oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazoles 4a-k from azide 8 by coupling with active ketones 11



Entry ^a	Ketone	Triazole ^b (yield)% ^c
1	11a: R ² = Ph, R ¹ = SO ₂ -p-Tol	4a (68)
2	11b: R ² = p-CH ₃ Ph, R ¹ = SO ₂ -p-Tol	4b (61)
3	11c: R ² = p-NO ₂ Ph, R ¹ = SO ₂ -p-Tol	4c (74)
4	11d: R ² = m-NO ₂ Ph, R ¹ = SO ₂ -p-Tol	4d (70)
5	11e: R ² = p-Cl-Ph, R ¹ = SO ₂ -p-Tol	4e (72)
6	11f: R ² = thiophen-2-yl, R ¹ = SO ₂ -p-Tol	4f (68)
7	11g: R ² = 5-chlorothiophen-2-yl, R ¹ = SO ₂ -p-Tol	4g (64)
8	11h: R ² = pentyl, R ¹ = SO ₂ Ph	4h (71)
9	11i: R ² = CH ₃ , R ¹ = COCH ₃	4i (73)
10	11j: R ² = Ph, R ¹ = COPh	4j (71)
11	11k: R ² = Ph, R ¹ = CN	4k (67)

^a Reaction conditions: To a solution of compound 8 (1.0 eq.) and 11 (1.0 eq.) in DMF anh., DBU (2.0 eq.) was added. The reaction mixture was stirred at 50–60 °C for 12–24 h. ^b Confirmed by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS. ^c Yields refer to chromatographically pure isolated compounds.

Candida glabrata ATCC-34138, and *Candida krusei* ATCC-14243. Then, the sensitivity of the filamentous microorganisms was determined by the microdilution M38-A method,¹⁵ and that of the yeast fungi with the M27-A3 method.¹⁶

Such antifungal activity was compared to that of itraconazole as the standard antifungal drug. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of the standard and compounds 4a-k, expressed in micrograms per milliliter, were determined in 96-well plates using MOPS (3-[N-morpholino]propanesulfonic acid buffered RPMI-1640 medium, Sigma-Aldrich).

4. Results and discussion

The antifungal activity of the test compounds is summarized in Table 2. Compounds 4d, 4h and 4k showed excellent activity against *C. glabrata* (MIC 0.12, 0.25 and 0.12 μg mL⁻¹, respectively), better than that of

itraconazole (MIC 1 μg mL⁻¹). The activity of compound 4d (MIC = 2 μg mL⁻¹) was higher than that observed for the standard antifungal drug (MIC = 8 μg mL⁻¹) against *Trichosporon cutaneum*, while compound 4k displayed an excellent antimycotic activity against *Mucor hiemalis* (MIC = 2 μg mL⁻¹ vs. 4 μg mL⁻¹ for itraconazole). Compounds 4a, 4c and 4e proved to be moderate antifungal agents against *Aspergillus fumigatus* strains. The current results suggest that the presence of either the *a*-CN or *p*-NO₂Ph group at position 5 of the triazole cores increases the biological activity of these compounds in both yeast and filamentous fungi.

These outcomes can also be described by the 'sensitivity' parameters of yeasts, according to the breakpoints described

in the M27-A3 document (Table 3). In general, *C. glabrata*, *C. krusei* and *C. parapsilosis* showed some susceptibility to the test compounds, whereas *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. utilis* were resistant to all of them.

Table 2 *In vitro* antifungal activities of the synthesized compounds (MIC, μg mL⁻¹)

Compound	<i>C. alb</i>	<i>C. trop</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>	<i>M. hie</i>	<i>A. fum</i>	<i>T. cut</i>	<i>R. ory</i>
4a	8	8	8	0.5	1	8	4	2	8	16
4b	1	8	4	8	2	0.25	16	8	8	16
4c	4	8	4	0.25	4	8	16	2	8	16
4d	8	8	8	8	0.12	0.5	16	16	2	16
4e	8	8	8	8	4	8	16	4	8	16
4f	8	8	8	8	1	8	16	8	8	16
4g	8	8	8	2	2	4	16	16	8	16
4h	8	8	8	8	0.25	8	16	16	8	16
4i	8	8	8	8	2	4	16	16	8	8
4j	8	8	8	8	2	8	16	16	8	16
4k	8	8	8	0.5	0.12	8	2	16	8	16
Standard ^a	0.03	0.06	0.25	0.25	1	0.06	4	1	8	1

Abbreviations: *C. alb.*, *Candida albicans*; *C. trop.*, *Candida tropicalis*; *C. uti.*, *Candida utilis*; *C. kru.*, *Candida krusei*; *C. gla.*, *Candida glabrata*; *C. par.*, *Candida parapsilosis*; *M. hie.*, *Mucor hiemalis*; *A. fum.*, *Aspergillus fumigatus*; *T. cut.*, *Trichosporon cutaneum*; *R. ory.*, *Rhizopus oryzae*.^a Itraconazole.

Table 3 Determination of the sensitivity of yeast (according to document M27-A3): Susceptible (S), dose-dependent sensitive (SDD) and resistant (R)

Compound	<i>C. alb</i>	<i>C. trop</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>
4a	R	R	R	SDD	R	R
4b	R	R	R	R	R	SDD
4c	R	R	R	SDD	R	R
4d	R	R	R	R	S	SDD
4e	R	R	R	R	R	R
4f	R	R	R	R	R	R
4g	R	R	R	R	R	R
4h	R	R	R	R	SDD	R
4i	R	R	R	R	R	R
4j	R	R	R	R	R	R
4k	R	R	R	SDD	S	R
Standard ^a	S	S	SDD	SDD	R	S

Abbreviations: *C. alb.*, *Candida albicans*; *C. trop.*, *Candida tropicalis*; *C. uti.*, *Candida utilis*; *C. kru.*, *Candida krusei*; *C. gla.*, *Candida glabrata*; *C. par.*, *Candida parapsilosis*. ^a Itraconazole. Interpretive criteria: breakpoints (MIC, $\mu\text{g mL}^{-1}$) = 0.12 [S], 0.25–0.5 [SDD], 1 [R].

5. Conclusion

In summary, eleven oxazolidinone-linked 1,2,3-triazole derivatives (4a–k) were synthesized in good yields based on azide-enolate 1,3-dipolar cycloaddition. *In vitro* assays demonstrated that compound 4k is the most efficient antimicrobial agent, since it was either better than or comparable to itraconazole against three species (*C. glabrata*, *M. hiemalis* and *T. cutaneum*). The second best antimicrobial activity was exhibited by compound 4d, which was much better than the reference drug against two species (*C. glabrata* and *T. cutaneum*). In consequence, these compounds can be considered as drug candidates for future complementary biological studies. In addition, we have developed a novel organic solvent-free synthesis of β -ketosulfones in an aqueous nanomicellar medium. The surfactant nature of SPGS-550-M or

‘NOK’ (a third generation surfactant) allows it to act as an efficient nanoreactor in catalytic amounts. The notable advantages of this methodology over those previously reported include its simplicity of handling, mild conditions, high yields, cheap reagents and great tolerance of functional groups.

Conflicts of interest

The authors declare no competing interest.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge financial support from the Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados/UAEMéx (project no. 3804/2014/CID) and CONACYT-Mexico (postgraduate scholarship no. 227581 and no. 273644). The authors would also like to thank the referees for their valuable comments and suggestions, Signa S.A. de C.V. for kindly donating some solvents and reagents, and L. Triana-Cruz (CCIQS UAEMéx-UNAM) for technical support.

References

- (a) N. Pandit, R. K. Singla and B. Shrivastava, *Int. J. Med. Chem.*, 2012, 2012, 24; (b) K. J. Shaw and M. R. Barbachyn, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2011, 1241, 48–70.
- (a) A. Massarotti, S. Aprile, V. Mercalli, E. Del Grosso, G. Grosa, G. Sorba and G. C. Tron, *ChemMedChem*, 2014, 9, 2497–2508; (b) S. G. Agalave, S. R. Maujan and V. S. Pore, *Chem. – Asian J.*, 2011, 6, 2696–2718; (c) R. Kharb, P. C. Sharma and M. S. Yar, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2011, 26, 1–21.
- Oxazolidinone scaffolds: (a) O. A. Phillips and L. H. Sharaf, *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2016, 26, 591–605; (b) K. Michalska, I. Karpiuk, M. Król and S. Tyski, *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, 21, 577–591; (c) K. Michalska, I. Karpiuk, M. Król and S. Tyski, *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, 21, 577–591; (d) 1,2,3-Triazole scaffolds: F. de Carvalho da Silva, M. F. do Carmo Cardoso, P. Garcia-Ferreira and V. F. Ferreira, *Biological properties of 1H-1,2,3- and 2H-1,2,3-triazoles*, in *Chemistry of 1,2,3-triazoles*, ed. W. Dehaen and V. A. Bakulev, Springer International Publishing, Switzerland, 2015, pp. 117–165, DOI: 10.1007/7081_2014_124.
- (a) M. V. Nora de Souza, *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2008, 18, 1101–1105; (b) F. Reck, F. Zhou, M. Girardot, G. Kern, C. J. Eyermann, N. J. Hales, R. R. Ramsay and M. B. Gravestock, *J. Med. Chem.*, 2005, 48, 499–506; (c) J. A. Demaray, J. E. Thuener, M. N. Dawson and S. J. Sucheck, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, 18, 4868–4871; (d) O. A. Phillips, E. E. Udo and S. M. Samuel, *Eur. J. Med. Chem.*, 2008, 43, 1095–1104; (e) O. A. Phillips, E. E. Udo, M. E. Abdel-Hamid and R. Varghese, *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, 44, 3217–3227; (f) H. Fan, Y. Chen, Z. Jiang, S. Zhang, D. Zhong, R. Ji and Y. Yang, *Eur. J. Med. Chem.*, 2008, 43, 1706–1714; (g) G. Acquah-Harrison, S. Zhou, J. V. Hines and S. C. Bergmeier, *J. Comb. Chem.*, 2010, 12, 491–496.
- M. B. Gravestock, M. I. Betts, D. A. Griffin and I. R. Matthews, Oxazolidinone derivatives with antibacterial activity, PCT Int. Appl. WO0181350, Astrazeneca U.K. Limited, Astrazeneca AB, Sweden, 2001.
- A. L. Choy and V. P. V. N. Josyula, Benzisoxazole oxazolidinones as antibacterial agents, PCT Int. Appl. WO2007088438A2, Pfizer Products Inc., US, 2007.
- <http://melinta.com/>.
- (a) B. Bozdogan and P. C. Appelbaum, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2004, 23, 113–119; (b) A. Chan, J. Cross, Y. He, B. Lippa and D. Ryan, *Antibacterial Drugs*, in *Drug Discovery: Practices, Processes, and Perspectives*, ed. J. J. Li and E. J. Corey, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2013, ch. 10, pp. 412–413, DOI: 10.1002/9781118354483.ch10.
- (a) F. Schiaffella, A. Macchiarulo, L. Milanese, A. Vecchiarelli, G. Costantino and D. Pietrella, *J. Med. Chem.*, 2005, 48, 7658–7666; (b) J. Y. Choi, L. M. Podust and W. R. Roush, *Chem. Rev.*, 2014, 114, 11242–11271.
- B. M. Santoyo, C. González-Romero, O. Merino, R. Martínez-Palou, A. Fuentes-Benites, H. A. Jiménez-Vázquez, F. Delgado and J. Tamariz, *Eur. J. Org. Chem.*, 2009, 2009, 2505–2518.

Research Article

- 11 Sigma-Aldrich catalog number: 776033.
- 12 J. C. Lee, Y. H. Bae and S. K. Chang, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2003, 24, 407–408.
- 13 (a) N. Jung and S. Bräse, Click Reactions: Azide-Alkyne Cycloaddition, *Kirk-Othmer Encycl. Chem. Technol.*, 2013, 1–43, DOI: 10.1002/0471238961.dicjung.a01; (b) *Click Reactions in Organic Synthesis*, ed. S. Chandrasekaran, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2016, DOI: 10.1002/9783527694174.
- 14 D. González-Calderón, I. Santillán-Iniesta, C. A. González-González, A. Fuentes-Benites and C. González-Romero, *Tetrahedron Lett.*, 2015, 56, 514–516.
- 15 (a) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *Document M38-A2: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi*, Approved Standard, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2nd edn, 2002; (b) A. L. Barry, An overview of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and its impact on antimicrobial susceptibility tests, in *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*, ed. R. Schwalbe, L. Steele-Moore and A. C. Goodwin, CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, 2007, pp. 1–6, ISBN: 9780824741006; (c) A. Espinel-Ingroff and E. Canton, Antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, in *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*, ed. R. Schwalbe, L. Steele-Moore and A. C. Goodwin, CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, 2007, pp. 209–241, ISBN: 9780824741006.
- 16 (a) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *M27-A3: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved Standard, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 3rd edn, 2008, ISBN: 1-56238-666-2; (b) A. Espinel-Ingroff and E. Canton, Antifungal susceptibility testing of yeasts, in *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*, ed. R. Schwalbe, L. Steele-Moore and A. C. Goodwin, CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, 2007, pp. 173–208, ISBN: 9780824741006; (c) A. W. Fothergill, *Antifungal Susceptibility Testing Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) methods*, in *Interactions of Yeasts, Moulds, and Antifungal Agents, How to Detect Resistance*, ed. G. S. Hall, Springer Science-Business Media, 2012, pp. 65–74, DOI: 10.1007/978-1-59745-134-5_2; (d) M. A. Pfaller and D. J. Diekema, *J. Clin. Microbiol.*, 2012, 50, 2846–2856; (e) M. C. Arendrup, G. Garcia-Effron, C. Lass-Flörl, A. G. López, J. L. Rodriguez-Tudela, M. Cuenca-Estrella and D. S. Perlin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2010, 54, 426–439.

Anexo 4. Artículo enviado (Proyecto 2).

European Journal of Medicinal Chemistry xxxxx

Graphical Abstract

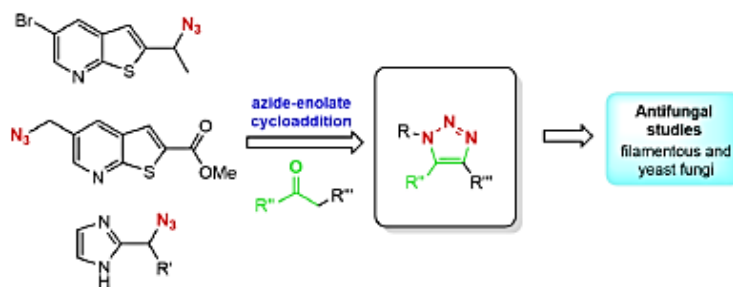
To create your abstract, type over the instructions in the template box below.

Fonts or abstract dimensions should not be changed or altered.

Evaluation of the antifungal sensitivity of novel thienopyridine and imidazole linked-1,2,3-triazole derivatives

Leave this area blank for abstract info.

Ramírez-Villalva Alejandra, González-Calderón Davir, Hernández-Mireles Leonardo R., Ayala-Estrada David A., Tamariz Joaquín, Jauregui-Rodríguez Bertha, González-Romero Carlos and Fuentes-Benites Aydeé.



Short Communication

Evaluation of the antifungal sensitivity of novel thienopyridine and imidazole linked-1,2,3-triazole derivatives

Ramírez-Villalva Alejandra ^a, González-Calderón Davir ^a, Hernández-Mireles Leonardo R. ^a, Ayala-Estrada David A. ^a, Tamariz Joaquín ^b, Jauregui-Rodríguez Bertha ^c, González-Romero Carlos ^a and Fuentes-Benites Aydeé ^{a,*}

^a Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Colón/Paseo Tollocan s/n, Toluca, Estado de México, 50120, México.

^b Departamento de Química Orgánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prol. Carpio y Plan de Ayala, Ciudad de México, 11340, México.

^c Departamento de Microbiología, Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Colón/Paseo Tollocan s/n, Toluca, Estado de México, 50120, México.

* Corresponding author: Tel: +52 722 217 5109x113; Fax: +52 722 217 3890; e-mail: mpagfuentesb@uaemex.mx

ARTICLE INFO

Article history:

Received
Received in revised form
Accepted
Available online

Keywords:

1,2,3-Triazole derivatives
Antifungal activity
Azide-enolate cycloaddition

ABSTRACT

Six novel compounds involving a 1,4,5-trisubstituted triazole moiety were synthesized through an azide-enolate 1,3-dipolar cycloaddition. The antifungal activity of these compounds was evaluated *in vitro* against four filamentous fungi, including *Aspergillus fumigatus* ATCC 16907, *Trichosporon cutaneum* ATCC 28592, *Rhizopus oryzae* ATCC 10329, and *Mucor hiemalis* ATCC 8690 as well as six species of *Candida*, *C. albicans* ATCC 10231, *C. utilis* ATCC 9226, *C. tropicalis* ATCC 13803, *C. parapsilopsis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 34138 and *C. krusei* ATCC 14243 as yeast specimens. These studies suggest that compounds 1b, 2a, 2b and 3b can be considered as candidates for future complementary biological studies due to their good to excellent antifungal activities.

© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Azoles are the most commonly used class of antifungals [1]. It is well known that both triazoles and imidazoles have a broad spectrum of activity, which makes it possible to counteract mycosis caused by yeast as well as by filamentous fungi [2]. Antifungals such as fluconazole, voriconazole and itraconazole are important drugs for the treatment of invasive fungal infections (IFIs) [3], which continue to be an important cause of morbidity and mortality in immunocompromised patients, having in common the presence of the triazole ring. The latter allows for the interaction of the drug with the enzyme 14- α -demethylase (the cytochrome P-450 dependent enzyme), resulting in its inhibition and causing the formation of toxic esters in the fungal membrane. Hence, the permeability of the membrane is modified, avoiding the reproduction of the fungus [4]. On the other hand, it is well known that *N*-heterocyclic compounds derivatives of pyridine as thienopyridines are found in natural products, and are known to exert significant biological activity in several drugs, including anticancer [5], antibacterial [6], antimalarial and antifungal [7] activities (Figure 1).

Due to the increase in resistance to current antifungals and antimicrobials, it is necessary to continue the design and development of compounds against species of clinical importance (eg. *Candida albicans*, *C. glabrata* [8], *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* [9,10], and *Mucor sp.* and *Cryptococcus neoformans*. [10]). The aim of the present study was to synthesize and determine the antifungal sensitivity of new 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazole derivatives.

2. Chemistry

Our initial study began by obtaining starting materials, azides 5 and ketones 7 (Scheme 1). First, the synthesis of azide

derivatives 5 were obtained by the nucleophilic substitution by the ion azide through the reaction of the chloro compounds 4 with NaN₃ and DMF as solvent.

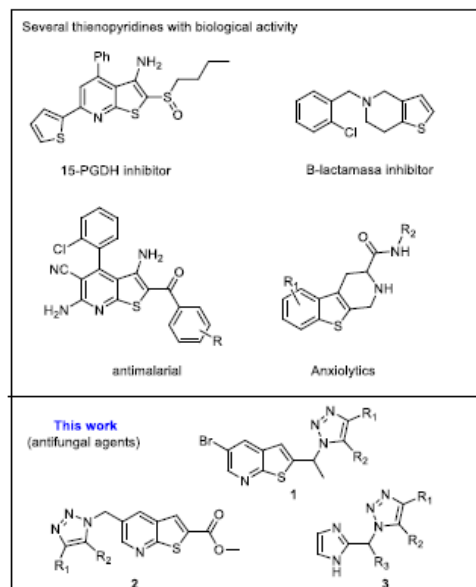
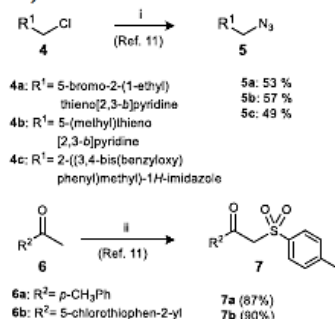


Figure 1. The novel compounds involve the extremely important 1,2,3-triazole pharmacophoric cores and thienopyridines, a similar feature found in other compounds reported.

Second, compounds **7a-b** were prepared following our method developed as a novel catalytic synthetic strategy [11] to obtain β -ketosulfones by treating α -bromoketones with sodium *p*-toluenesulfinate in aqueous nanomicellar medium, by the concomitant use of the surfactant reagent SPGS-550-M or 'Nok' [12] (Scheme 1).

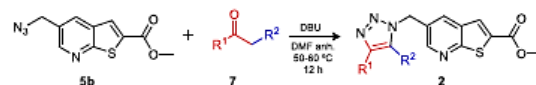


Scheme 1. Reagents and conditions: (a) NaN₃ (1.1 eq), DMF, 60 °C, 12 h. (b) (i) NBS (1.1 eq), TsOH.H₂O (1.0 eq), MeCN, 60 °C, 4 h; (ii) SPGS-550-M aq. (2% w/w), *p*-Tol-SO₂Na (1.5 eq), r.t., 12 h.

Table 1 Synthesis of thienopyridine (**1a-b** and **2a-b**), and imidazole linked-1,2,3-triazoles by coupling with azides and active ketones.



Entry ^a	Ketone	Triazole ^b (Yield%) ^c
1	7a: R ¹ = SO ₂ - <i>p</i> -Tol, R ² = <i>p</i> -CH ₃ Ph	52 (1a)
2	7c: R ¹ = COPh, R ² = Ph	47 (1b)



Entry ^a	Ketone	Triazole ^b (Yield%) ^c
1	7c: R ¹ = COPh, R ² = Ph	53 (2a)
2	7d: R ¹ = CN, R ² = Ph	45 (2b)



Entry ^a	Ketone	Triazole ^b (Yield%) ^c
1	7b: R ¹ = SO ₂ - <i>p</i> -Tol, R ¹ = 5-chlorothiophen-2-yl,	58 (3a)
2	7c: R ¹ = COPh, R ² = Ph	52 (3b)

^a Reaction conditions: 5a (1.0 eq), 7 (1.0 eq), DBU (2.0 eq), DMF, 50-60 °C for 12-24 h.
^b Characterized by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS.
^c Yields refer to chromatographically pure isolated compounds.

One of the most important methodologies for synthesizing 1,2,3-triazoles is the Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) reaction [13]. Other strategies had emerged with of

objective of providing new alternatives for that purpose [14]. We previously reported a novel synthetic strategy in order to afford the efficient assembly of 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazole core through an azide-enolate cycloaddition. Consequently, thienopyridines and imidazole linked-1,2,3-triazole derivatives were achieved by the efficient 1,3-dipolar cycloaddition of azide **5** in presence of enolates prepared *in situ* from ketones **7** activated by DBU as base. Table 1 summarizes these outcomes.

3. Microbiology

The antifungal sensitivity *in vitro* for compounds **1-3** (a-b) was carried out against four filamentous fungi (*Trichosporon cutaneum* ATCC-28592, *Aspergillus fumigatus* ATCC-16907, *Mucor hiemalis* ATCC-8690 and *Rhizopus oryzae* ATCC-10329), as well as six yeasts specimens of *Candida* (*C. albicans* ATCC-10231, *C. krusei* ATCC-14243, *C. utilis* ATCC-9226, *C. tropicalis* ATCC-13803, *C. parapsilopsis* ATCC-22019, *C. glabrata* ATCC-34138) under standardized microbiological methods by the CLSI.

The sensitivity of the yeasts fungi was determined by the microdilution method M27-A3 [15], whereas method M38-A [16] was used for filamentous microorganisms.

The minimum inhibitory concentration (MIC) values of the standard and compounds **1-3**, expressed in micrograms per milliliter, were determined in 96-well plates using MOPS (3-[*N*-morpholino]propanesulfonic acid buffered RPMI-1640 medium). Such antifungal activities were compared with itraconazole as standard antifungal drug.

4. Results and discussion

The antifungal activity of the evaluated compounds is summarized in Table 2. Compound **2a** showed good activity against *C. glabrata* (MIC = 0.5 µg/mL), but it was superior with itraconazole (MIC = 0.03 µg/mL). Derivatives **1b** and **3b** showed good activity against *C. glabrata* (MIC = 0.12 and 1 µg/mL respectively), in which the MIC of **1b** was better than itraconazole (MIC = 1 µg/mL). The activity of compound **2b** (MIC = 1 µg/mL) was the same than that observed for the standard antifungal drug against *Rhizopus oryzae*.

According to these results, the presence of the benzoyl group in position 4 as well as the phenyl group in position 5 of the triazole core seems to be the cause of the increase of the biological activity of the compounds in strains of yeasts of *C. albicans* and *C. glabrata*. Compound **2b** showed good activity in *Rhizopus oryzae* strain, since it has the same MIC as the reference drug (MIC = 1 µg/mL). These results indicate that the use of the benzoyl group or a group -CN in position 4 favors the antifungal activity.

These outcomes can be also described by 'sensitivity' parameters of yeast according to the document M27-A3 [17] (Table 3). In general, *C. glabrata* and *C. albicans* showed some susceptibility to the evaluated compounds, whereas *C. krusei*, *C. parapsilopsis* and *C. utilis* were resistant to all the evaluated compounds according to the breakpoints described by such document.

5. Conclusion

In summary, the azide-enolate 1,3-dipolar cycloaddition was efficient to afford the six 1,2,3-triazole derivatives **1-3** in good yields. *In vitro* studies showed that compound **1b** is the most efficient antimicrobial agent followed by compounds **2a**, **2b** and **3b**, since the first was either better than or comparable to itraconazole against *C. glabrata*, whereas **2b** and **3b** showed the same MIC as the reference in two strains (*R. oryzae* and *C. glabrata*, respectively). Compound **2a** has good activity in *C.*

albicans (0.5 µg/ml), but lower than itraconazole (0.03 µg/ml), being the SDD strain. In summary, these compounds can be

considered as drug candidates for future complementary biological studies.

TABLE 2.
In vitro antifungal activities of synthesized compounds (MIC, µg/mL)

Compound	<i>C. alb</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>	<i>M. hie</i>	<i>A. fum</i>	<i>T. cut</i>	<i>R. ory</i>
1a	16	16	16	16	16	16	8	16	16
1b	16	16	16	0.12	8	16	16	16	16
2a	0.5	16	2	16	8	16	16	16	2
2b	8	16	8	16	8	16	8	8	1
3a	16	16	16	8	16	16	4	16	16
3b	16	16	16	1	16	8	16	8	16
Standard*	0.03	0.25	0.25	1	0.06	4	1	8	1

Abbreviations: *C. alb.*, *Candida albicans*; *C. uti.*, *Candida utilis*; *C. kru.*, *Candida krusei*; *C. gla.*, *Candida glabrata*; *C. par.*, *Candida parapsilopsis*; *M. hie.*, *Mucor hiemalis*; *A. fum.*, *Aspergillus fumigatus*; *T. cut.*, *Trichosporon cutaneum*; *R. ory.*, *Rhizopus oryzae*.
* Itraconazole. Interpretive criteria: Breakpoints (MIC, µg/mL) = 0.12 [S], 0.25–0.5 [SDD], 1[R].

Table 3
Determination of the sensitivity of yeasts (according to document M27-A3): Susceptible (S), dose-dependent sensitive (SDD) and resistant (R).

Compound	<i>C. alb</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>
1a	R	R	R	R	R
1b	R	R	R	S	R
2a	SDD	R	R	R	R
2b	R	R	R	R	R
3a	R	R	R	R	R
3b	R	R	R	R	R
Standard*	S	SDD	SDD	R	S

Abbreviations: *C. alb.*, *Candida albicans*; *C. uti.*, *Candida utilis*; *C. kru.*, *Candida krusei*; *C. gla.*, *Candida glabrata*; *C. par.*, *Candida parapsilopsis*.
* Itraconazole. Interpretive criteria: Breakpoints (MIC, µg/mL) = 0.12 [S], 0.25–0.5 [SDD], 1[R].

6. Experimental section

6.1. General

Flash column chromatography: SiO₂ 60 (230–400 mesh). **TLC:** Silica-gel plates (SiO₂; 0.20-mm thickness); visualization with UV light at 254 nm. **M.p.:** Fischer-Johns Scientific melting point apparatus; uncorrected. **¹H- and ¹³C-NMR spectra:** Bruker Avance 300 MHz and Varian 500 MHz; δ in ppm rel. to Me₄Si as internal standard, *J* in Hz. **MS:** Shimadzu GCMS-QP2010 Plus; in m/z (rel. %).

6.1.1. General experimental procedure for the direct conversion of α-bromo ketones to β-ketosulfones: To a 10-mL round-bottom flask equipped with a magnetic stir bar was added 1 mmol of α-bromo ketone. Then 3.0 mL of SPGS-550-M aq. (2% w/w) and 1.5 mmol of sodium *p*-toluenesulfonate were added, stirring such reaction mixture at room temperature for 12 h in an open-flask system. After adding brine (ca. 15.0 mL) to the reaction, the mixture was washed with EtOAc (3 × 8 mL). The organic layer was dried (Na₂SO₄) and the solvent evaporated under reduced pressure. The crude extract was purified by flash column chromatography to afford the corresponding sulfonyl derivative [11].

6.1.2. General experimental procedure for the preparation of triazoles: To a mixture of the 1,3-dicarbonyl compound (0.15 mmol) in 3 mL of DMF was added the corresponding azide (0.15 mmol). It was stirred at 50–60 °C for 12 h under nitrogen

atmosphere. Afterwards, TLC indicated the disappearance of the starting materials, and then the solution was brought to room temperature under continuous stirring for 20 min. DMF was removed with extractions by using a brine solution and EtOAc. The organic phase was dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated under reduced pressure. Finally, the crude was purified by flash chromatography over silica, eluting with EtOAc/hexane 7/3.

6.1.3. 5-bromo-2-(1-(5-(*p*-tolyl)-4-tosyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)ethyl)thieno[2,3-*b*]pyridine (1a)

To a solution of the azide 5a (0.042 g, 0.15 mmol) and ketone 7a (0.043 g, 0.15 mmol) dissolved in anhydrous DMF (3 mL), DBU (0.044 mL, 0.3 mmol) was added under nitrogen atmosphere. The solution was stirred at 50–60 °C for 24 h, at which time TLC indicated the disappearance of the starting materials. Brine (~40 mL) was added and then the mixture was washed with EtOAc (3 × 10 mL). The organic layer was dried

(Na₂SO₄) and the solvent evaporated under reduced pressure. The crude extract was purified by flash column chromatography eluting with hexane/ EtOAc 3/7 to provide 1a (0.043 g, 52%) as a brown solid. **Rf:** 0.14 (hexane/ EtOAc 3/7). **m.p.** 175–177 °C. **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.68 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.34 – 8.24 (m, 3H), 8.12 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.99 (s, 1H), 7.81 – 7.68 (m, 2H), 7.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.75 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 2.93 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.68 – 2.61 (m, 3H) ppm. **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ = 162.62, 161.41, 150.57, 145.58, 135.38, 134.19, 130.56, 130.12, 128.56, 125.77, 124.02, 117.23, 64.21, 26.71, 21.81 ppm. **HRMS [EI+]** m/z (%): 554.9665 (M⁺).

6.1.4. (1-(1-(5-bromothieno[2,3-*b*]pyridin-2-yl)ethyl)-5-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)(phenyl)methanone (1b)

Following the synthetic procedure for 1a, compound 5a (0.042 g, 0.15 mmol) and 7c (0.034 g, 0.15 mmol) were coupled in the presence of DBU (0.044 mL, 0.3 mmol). The crude extract was purified by flash column chromatography, eluting with hexane/ EtOAc 3/7 to give 1b (0.034 g, 47%) as a brown solid. **Rf:** 0.04 (hexane/ EtOAc 3/7). **m.p.** 219–221 °C. **¹H NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.58 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.88 (s, 2H), 7.80 (s, 1H), 7.51 – 7.40 (m, 2H), 7.39 – 7.25 (m, 6H), 5.53 (s, 1H), 2.27 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 191.44, 147.88, 145.51, 145.16, 139.70, 134.95, 133.76, 133.14, 130.13, 129.69, 129.38, 128.14, 125.84, 125.35, 123.60, 119.15, 116.80, 63.78, 21.39 ppm.

6.1.5. methyl 5-((4-benzoyl-5-phenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)thieno[2,3-b]pyridine-2-carboxylate (2a).

Following the synthetic procedure for 1a, compound 5b (0.037 g, 0.15 mmol) and 7c (0.034 g, 0.15 mmol) were coupled in the presence of DBU (0.044 mL, 0.3 mmol). The crude extract was purified by flash column chromatography, eluting with hexane/EtOAc 3/7 to give 2a (0.036 g, 53%) as a brown oil. Rf: 0.10 (hexane/EtOAc 3/7). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.30 – 8.20 (m, 5H), 7.90 (d, J = 3.7 Hz, 2H), 7.74 (s, 1H), 7.59 – 7.51 (m, 1H), 7.52 – 7.37 (m, 4H), 5.59 (s, 2H), 2.87 (s, 3H) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 177.77, 162.66, 137.08, 133.18, 132.14, 130.79, 130.51, 129.85, 129.80, 129.78, 129.11, 128.35, 128.30, 127.73, 126.80, 126.17, 126.12, 52.97, 49.79 ppm.

6.1.7. methyl 5-((4-cyano-5-phenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)thieno[2,3-b]pyridine-2-carboxylate (2b).

Following the synthetic procedure for 1a, compound 5b (0.037 g, 0.15 mmol) and 7d (0.022 g, 0.15 mmol) were coupled in the presence of DBU (0.044 mL, 0.3 mmol). The crude extract was purified by flash column chromatography, eluting with hexane/EtOAc 3/7 to 1b (0.025 g, 45%) as a brown solid. Rf: 0.07 (hexane/EtOAc 3/7). m.p. 219–221 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.32 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.65 – 7.48 (m, 3H), 7.42 – 7.30 (m, 3H), 5.67 (s, 2H), 2.86 (s, 3H) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 162.67, 147.17, 143.90, 142.24, 133.05, 131.90, 131.73, 129.95, 129.07, 128.99, 126.84, 126.15, 123.11, 121.36, 50.33, 49.79 ppm. HRMS [EI+]
m/z (%): 375.0790 (M⁺).

6.1.8. 1-((3,4-bis(benzyloxy)phenyl)(1H-imidazol-2-yl)methyl)-5-(5-chlorothiophen-2-yl)-4-tosyl-1H-1,2,3-triazole (3a).

Following the synthetic procedure for 1a, compound 5c (0.062 g, 0.15 mmol) and 7b (0.047 g, 0.15 mmol) were coupled in the presence of DBU (0.044 mL, 0.3 mmol). The crude extract was purified by flash column chromatography, eluting with hexane/EtOAc 3/7 to give 1b (0.062 g, 58%) as an orange solid. Rf: 0.04 (hexane/EtOAc 3/7). m.p. 219–221 °C. ¹H NMR (300

MHz, CDCl₃) δ = 8.04 (s, 1H), 7.57 – 7.29 (m, 11H), 7.08 (t, J = 6.8 Hz, 3H), 7.01 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.19 (d, J = 5.2 Hz, 4H), 2.62 (dd, J = 2.9, 1.5 Hz, 1H) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 146.90, 146.75, 135.41, 135.28, 126.65, 126.62, 126.57, 126.10, 126.06, 125.98, 125.71, 119.07, 112.56, 68.91, 58.08 ppm.

6.1.9. 1-((3,4-bis(benzyloxy)phenyl)(1H-imidazol-2-yl)methyl)-5-phenyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl(phenyl)methanone (3b).

Following the synthetic procedure for 1a, compound 5c (0.062 g, 0.15 mmol) and 7c (0.034 g, 0.15 mmol) were coupled in the presence of DBU (0.044 mL, 0.3 mmol). The crude extract was purified by flash column chromatography, eluting with hexane/EtOAc 3/7 to give 1b (0.048 g, 52%) as an orange solid. Rf: 0.07 (hexane/EtOAc 3/7). m.p. 219–221 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.21 (d, J = 7.1 Hz, 4H), 7.72 – 7.48 (m, 16H), 7.39 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 7.15 (s, 2H), 7.13 – 7.03 (m, 2H), 5.34 (d, J = 5.2 Hz, 4H), 5.13 (s, 1H) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ = 176.85, 149.96, 149.02, 148.38, 145.67, 137.46, 137.37, 130.00, 128.60, 128.52, 128.49, 128.45, 128.32, 127.77, 127.63, 127.31, 120.24, 115.21, 114.16, 71.40, 61.77 ppm.

Acknowledgments

Financial support from Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados/UAEMéx (grant No. 4512/2018/CI) and CONACYT-México (postgraduate scholarship No. 227581 and No. 273644) is gratefully acknowledged. J.T. thanks SIP/IPN (grant 20180198) and CONACYT (grant A1-S-17131) for

financial support. The authors would like to thank to M.N. Zavala-Segovia and M.N. Zavala-Segovia (CCIQS UAEMéx-UNAM) for technical support.

Supplementary Material

Supplementary material associated with this article (copies of ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and Mass spectra) can be found at <http://dx.doi.org/XXX-XX-XX>.

- [1] Raphael I. Benhamou, Masayan Bibi, Kfir B. Steinbuch, Hamtal Engel, Masayan Levin, Yael Roichman, Judith Berlan, Micha Fridman, Real-Time Imaging of the Azole-Class of Antifungal Drugs in Live Candida Cells, *Chem. Biol.* 12 (2017) 1769–1777.
- [2] (a) Yi-Yi Zhang, Cheng-He Zhou, Synthesis and activities of naphthalimide azoles as a new type of antibacterial and antifungal agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21 (2011) 4349–4352. (b) Hui-Zhen Zhang, Guri LV Dana, Gui-Xin Cai, Cheng-He Zhou, Design, synthesis and antimicrobial evaluation of novel benzimidazole type of Fluconazole analogues and their synergistic effects with Chloramphenicol, Norfloxacin and Fluconazole, *Eur. J. Med. Chem.* 64 (2013) 329–344.
- [3] (a) Rémi Guillou, Fabrice Pagniez, Carine Picot, Damien Hédon, Alain Tommeré, Elizabeth Chosson, Muriel Duflos, Thierry Besson, Cédric Logé, and Patrice Le Pape, Discovery of a Novel Broad-Spectrum Antifungal Agent Derived from Albuconazole, *Med. Chem. Lett.* 4 (2013) 288–292. (b) Shudong Wang, Lei Zhang, Yongsheng Jin, Jin Hao Tang, Hua Su, Shichong Yu and Hairiang Ren, Synthesis and Evaluation of Some Substituted Heterocyclic Fluconazole Analogues as Antifungal Agents, *Asian J. Chem.* 26 (2014) 2362–2364.
- [4] Bin Yao, Haitao Ji, Yongbin Cao, Youjun Zhou, Ji' Zhu, Jiaguo Lu', Yaowu Li, Jun Chen, Canhui Zheng, Yuanying Jiang, Rongmei Liang, and Hui Tang, Synthesis and Antifungal Activities of Novel 2-Aminotetralin Derivatives, *J. Med. Chem.* 50 (2007) 5293–5300.
- [5] (a) Simon C. C. Lucas, Jane E. Moore, Craig S. Donald, and Janet L. Hawkins, Synthesis of 4-Arythieno[2,3-b]pyridines and 4-Aminothieno[2,3-b]pyridines via a Regioselective Bromination of Thieno[2,3-b]pyridine, *J. Org. Chem.* 80 (2015) 12594–12598. (b) Afaf K. Elansary, Ashraf A. Moneer, Hanan H. Kady, and Ehab M. Gedawy, Synthesis and Anticancer Activity of Some Novel Fused Pyridine Ring System, *Arch. Pharm. Res.* 35 (2012) 1909–1917.
- [6] Bruno Leal, Ildio F. Afonso, Carlos R. Rodrigues, Paula A. Abreu, Rafael Garrett, Luiz Carlos S. Pinheiro, Alexandre R. Azevedo, Julio C. Borges, Perclene F. Vega, Cláudio C. Santos, Francisco C. A. da Silveira, Lúcio M. Cabral, Izabel C. P. P. Frugulhetti, Alice M. R. Bernardino, Dhvani O. Santos, Helena C. Castro, Antibacterial profile against drug-resistant

Staphylococcus epidermidis clinical strain and structure-activity relationship studies of 1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine and thieno[2,3-b]pyridine derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2008) 8196–8204.

- [7] (a) Wiebke Fugel, Anselm Erich Oberholzer, Bernhard Gschloessl, Ron Drzikowski, Narkiss Pressburger, Lutz Preu, Laurence H. Pearl, Blandine Baratte, Morgane Ratin, Ilya Okun, Christian Doerig, Sebastian Kruggel, Thomas Lemcke, Laurent Meijer, and Conrad Kunick, 3,6-Diamino-4-(2-halophenyl)-2-benzoylthieno[2,3-b]pyridine-5-carbonitriles: Are Selective Inhibitors of Plasmodium falciparum Glycogen Synthase Kinase-3, *J. Med. Chem.* 56 (2013) 264–275. (b) Akhilesh K. Verma, Siva K. Reddy Kotia, Deepak Choudhary, Monika Patel, and Rakesh K. Tiwari, Silver-Catalyzed Tandem Synthesis of Naphthyridines and Thienopyridines via Three-Component Reaction, *J. Org. Chem.* 78 (2013) 4386–4401.
- [8] Narendran G-Dayanandan, Janet L. Paulsen, Kishore Viswanathan, Santosh Keshipetty, Michael N. Lombardo, Wangda Zhou, Kristen M. Lamb, Adrienne E. Sochia, Jeremy B. Alverson, Nigel D. Priestley, Dennis L. Wright, and Amy C. Anderson, Propargyl-Linked Antifolates are Dual Inhibitors of *Candida albicans* and *Candida glabrata*, *J. Med. Chem.* 57 (2014) 2643–2656.
- [9] Kishor S. Jain, Vijay M. Khedkar, Nikhilesh Arya, Prasad V. Rane, Pratip K. Chaskar, Evans C. Coutinho, Design, synthesis & evaluation of condensed 2H-4-arylamino-pyrimidines as novel antifungal agents, *Eur. J. Med. Chem.* 77 (2014) 166–175.
- [10] Michaela Serpi, Valentina Ferrari and Fabrizio Perusati, Nucleoside Derived Antibiotics to Fight Microbial Drug Resistance: New Utilities for an Established Class of Drugs? *J. Med. Chem.*, 59 (2016) 10343–10382.
- [11] Alejandra Ramírez-Villalva, Davir González-Caldéron, Roxana L. Rojas-García, Carlos González-Romero, Joaquín Tamariz-Mascaraña, Macario Morales-Rodríguez, Nieves Zavala-Segovia and Aydeé Fuentes-Benites, Synthesis and antifungal activity of novel oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives, *Med. Chem. Comm.* 8 (2017) 2258–2262.
- [12] Aldrich, Sigma Aldrich catalog number: 776033.
- [13] Click Reactions in Organic Synthesis, ed. S. Chandrasekaran, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2016, DOI: 10.1002/9783527694174.
- [14] (a) Francesca Pagliai, Tracey Pirali, Erika Del Grosso, Riccardo Di Brisco, Gian Cesare Tron, Giovanni Sorba, and Armando A. Genazzani, Rapid Synthesis of Triazole-Modified Resveratrol Analogues via Click Chemistry, *J. Med. Chem.*, 49 (2006) 467–470. (b) Bradley C. Deak, Marín J. Scanlon, and Jamie S. Simpson, Synthesis of Unsymmetrical

ANEXOS

European Journal of Medicinal Chemistry xxxxx

- 1,1'-Disubstituted Bis(1,2,3-triazole)s Using Monosilylbutadiynes, *Org. Lett.*, 13 (2011) 537–539.
- [15] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), M27-A3: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, third ed. 2008.
- [16] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Document M38-A2: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi, Approved Standard, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, second ed. 2002.
- [17] A.W. Fothergill, Antifungal susceptibility testing: Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) methods, in: G.S. Hall (Ed.), *Interactions of Yeasts, Moulds, and Antifungal Agents, How to Detect Resistance*, Springer Science-Business Media, Humana Press, 2012, pp. 65–74.

Anexo 5. Informe de estancia de investigación.



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

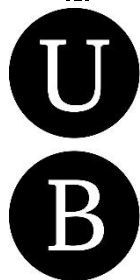
UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE QUÍMICA

ESTANCIA DE INVESTIGACIÓN

PRESENTA

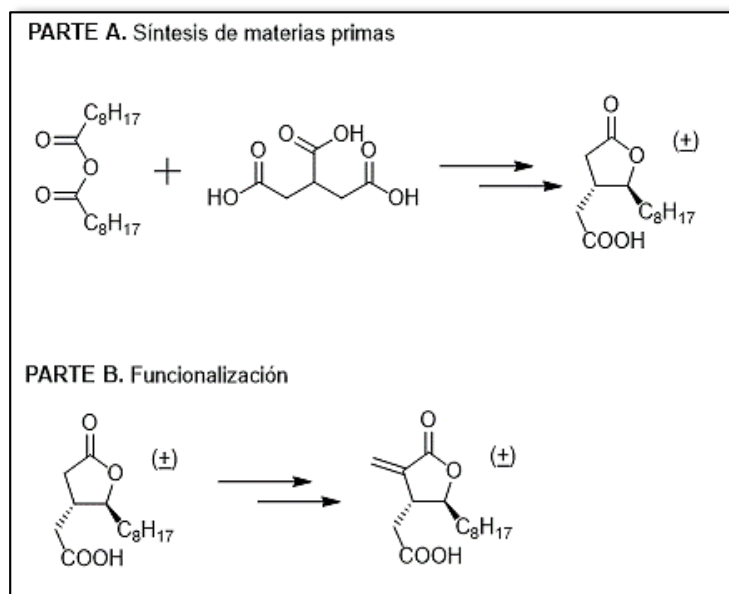
M. EN C.Q. ALEJANDRA RAMÍREZ VILLALVA



DICIEMBRE DE 2017

I. Generalidades.

Durante el periodo del 01 de Octubre al 31 de Diciembre de 2017 se realizó una estancia de Investigación en el Departamento de Química Inorgánica e Orgánica de la Universitat de Barcelona (España), bajo la dirección del Dr. Jordi García Gómez, (Grupo de Investigación SMBioCom <Metodología Sintética Aplicada a Productos Bioactivos>). Dicho proyecto tuvo como objetivo principal sintetizar inhibidores selectivos de las isoformas de la CPT1 que puedan ser potenciales fármacos para el control de la ingesta y la obesidad. Para lograr lo anterior, se llevó a cabo la ruta de síntesis general que se muestra en el esquema general.



Esquema General. Obtención de lactona análoga a CPT1.